

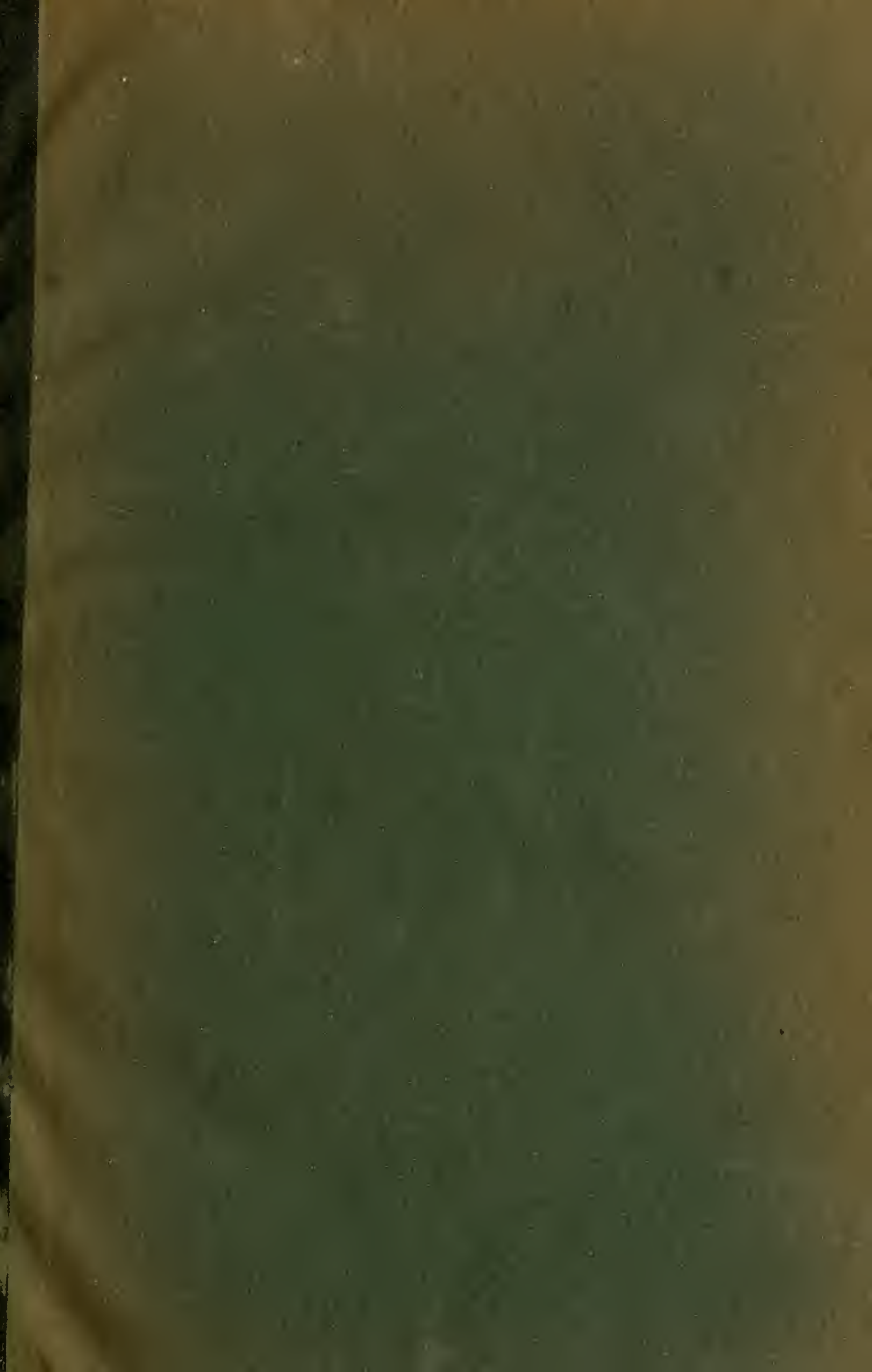
STRASBURGER-KOERNICKE

BOTANISCHES PRAKTIKUM

SIEBENTE AUFLAGE



JENA, GUSTAV FISCHER



E. STRASBURGER

DAS BOTANISCHE PRAKTIKUM

ANLEITUNG
ZUM SELBSTSTUDIUM DER MIKROSKOPISCHEN BOTANIK
FÜR ANFÄNGER UND GEÜBTE
ZUGLEICH EIN HANDBUCH DER MIKROSKOPISCHEN TECHNIK

SIEBENTE AUFLAGE

BEARBEITET VON

DR. MAX KOERNICKE
PROFESSOR DER BOTANIK AN DER LANDWIRTSCHAFTL. HOCHSCHULE BONN-POPPELSDORF
UND DER UNIVERSITÄT BONN

MIT 260 ABBILDUNGEN IM TEXT

SEMPER BONIS ARTIBUS

JENA
VERLAG VON GUSTAV FISCHER
1923



Fürstl. priv. Hofbuchdruckerei (F. Mitzlaff) Rudolstadt.

Aus dem Vorwort zur ersten Auflage.

Die großen Fortschritte, welche unsere Kenntnisse von dem inneren Bau der Organismen in den letzten Dezennien gemacht haben, sind vor allem der mikroskopischen Forschung zu danken. Dementsprechend wuchs das Verlangen nach guten Mikroskopen, es steigerten sich die Ansprüche an ihre Leistungsfähigkeit und regten eine stetige Vervollkommnung dieser Instrumente an. Jeder namhafte Fortschritt auf optischem Gebiete ermöglichte seinerseits neue Erfolge auf den Gebieten der mikroskopischen Forschung. So griffen seither und greifen noch die Leistungen auf beiden Gebieten ineinander. Wir Mikroskopiker fühlen uns aber vor allem Ernst Abbe verpflichtet, dessen rastlosen Bemühungen die jetzige Vollkommenheit unserer Instrumente hauptsächlich zu danken ist.

Mit der Erweiterung und Vertiefung der mikroskopischen Forschung bildete sich zugleich die mikroskopische Technik zu einer besonderen Kunstfertigkeit aus, ohne welche ein ersprießliches Arbeiten am Mikroskop nicht mehr möglich ist. — Nicht nur das mikroskopische Sehen will jetzt durch planmäßige Übung erlernt werden, sondern auch die kunstgerechte Zubereitung der zu beobachtenden Gegenstände, da ohne eine solche auch mit dem besten Mikroskop nur wenig zu erzielen ist.

Das vorliegende Buch stellt sich die Aufgabe, den Anfänger in die mikroskopische Botanik einzuführen und den Geübteren in deren Studium zu fördern. Beiden, dem Anfänger wie dem Geübteren, soll Gelegenheit geboten werden, nicht nur beobachten zu lernen, sondern sich auch mit der ganzen modernen mikroskopischen Technik bekannt zu machen. Da die botanische Arbeit am Mikroskop besonders geeignet erscheint, den Ausgangspunkt für mikroskopische Studien zu bilden, so wird dieses Buch nicht allein jenen dienen können, der sich der Botanik zu widmen beabsichtigt, sondern auch allen solchen, deren Beruf ein Vertrautsein mit dem Mikroskop verlangt. Die mikroskopische Forschung greift jetzt in immer weitere Kreise menschlichen Wissens hinein, so daß eine gewisse Erfahrung am Mikroskop bald zu einer allgemeinen Anforderung der modernen Bildung gehören dürfte. Alles, was sich an Naturwissenschaft anlehnt, wird diesem Instrument dienstpflichtig, und die stetig wachsende Anzahl optischer Institute, welche zu immer billiger werdenden Preisen brauch-

bare Mikroskope liefern, zeugt wohl am besten für die enorme Verbreitung, welche letztere finden.

Da das „botanische Praktikum“ sich auch an den Anfänger wendet, der mit dem Gebrauch der optischen Instrumente noch nicht vertraut ist, so setzt es zunächst möglichst wenig voraus und steigert erst allmählich die Ansprüche. Daher dieses Buch auch denjenigen, der ohne fremde Anleitung in den Gebrauch des Mikroskops eingeführt werden möchte, in den Stand setzen dürfte, dieses Ziel zu erreichen. Doch verlangt ein solches „botanisches Praktikum“ bereits die Bekanntschaft mit den wichtigsten Tatsachen der Botanik, wie sie etwa durch das Hören entsprechender Vorlesungen oder durch das Studium eines der neueren Lehrbücher der Botanik zu erlangen ist. Die mit größeren Lettern gedruckten Teile des Textes sind für den Anfänger bestimmt und so gegliedert, daß sie ihn vom Einfacheren zum Zusammengesetzten leiten und in 32 Abschnitten mit den wichtigsten der am Mikroskop zu lösenden botanischen Aufgaben vertraut machen. Die Zahl der Abschnitte wurde auf 32 festgesetzt, der Anzahl praktischer Übungen entsprechend, die im Laufe eines Universitätssemesters mit Anfängern etwa abzuhalten sind. Ein Teil der in jedem Abschnitt behandelten, größer gedruckten Aufgaben, ja oft sämtliche dieser Aufgaben, dürften im Laufe einiger Stunden, also in einer Sitzung zu bewältigen sein. Das erforderliche Arbeitsmaterial läßt sich nicht zu jeder Jahreszeit beschaffen, doch wählte ich, soweit als möglich, solche Pflanzen für die Untersuchung aus, deren Entwicklung nicht an eine zu kurze Zeitdauer gebunden ist; auch habe ich auf die Anwendung von Alkohol-Material hingewiesen, das den Beobachter von der gegebenen Jahreszeit fast unabhängig macht.

Der mit kleinen Lettern gedruckte Text ist für den Geübteren bestimmt. Es wird erwartet, daß letzterer möglichst viele der behandelten Objekte durcharbeite und mehrere Stunden täglich dieser Arbeit widme. Das vorliegende Buch möchte auf diese Weise den Geübteren vor zu rascher Inangriffnahme eigner Probleme und der sich hieraus leicht ergebenden Einseitigkeit schützen. Den klein gedruckten Text gesondert zusammenzustellen, erschien mir nicht ratsam, da hierdurch unliebsame Wiederholungen veranlaßt worden wären. Der kleinere Text schließt eben meist unmittelbar an den größeren an, und der Geübtere hat daher in letzterem die Anknüpfungspunkte für seine spezielleren Aufgaben zu suchen. Wiederholungen konnten ohnedies bei der gegebenen Gliederung des Stoffes nicht ganz vermieden werden, da eine genaue Kenntnis des ganzen vorausgehenden Textes im einzelnen Falle sich nicht annehmen ließ.

Auch als Objekte für die spezielleren Untersuchungen habe ich Pflanzen ausgewählt, die leicht zu beschaffen sind und eine nicht zu kurze Entwicklungsdauer besitzen.

Den Gebrauch der Instrumente und die mikroskopische Technik soll der Praktikant während des Studiums der einzelnen Objekte erlernen, weshalb die entsprechenden Angaben durch den ganzen Text zerstreut sind. Um aber auch das Nachschlagen des Werkes für bestimmte Zwecke zu ermöglichen, entschloß ich mich, den alphabetischen Registern eine möglichst große Ausdehnung zu geben. Diese Register dürften den Gebrauch des Buches auch jenem ermöglichen, der sich zu einem bestimmten Zwecke über einzelne Fragen der mikroskopischen Technik orientieren will.

Die erschöpfende Art der Behandlung, welche den einzelnen Objekten zuteil werden mußte, nötigte mir überall selbständige Untersuchungen auf. Nur auf diese Weise ließen sich alle die Fragen, welche ein mikroskopisches Bild an den Beobachter stellt, innerhalb gewisser Grenzen voraussehen und nach Möglichkeit beantworten. Da aber der Anfänger das Wesentliche vom Unwesentlichen im mikroskopischen Bilde nicht zu scheiden weiß und auch nach der Deutung des Unwesentlichen fragt, so mußte die Schilderung oft mehr in Einzelheiten eingehen, als es im Interesse der Übersichtlichkeit des Textes erwünscht schien. Übrigens ist es oft von Nutzen, daß der Beobachter alle Einzelheiten im mikroskopischen Bilde, deren Wichtigkeit im voraus nicht zu ermessen ist, beachten lerne und so seine Beobachtungsgabe schärfe. Solche aus einer eingehenden Schilderung der Objekte erwachsenden Vorteile halfen mir über die Bedenken hinweg, welche einer zu großen Ausdehnung des Textes entgegenstanden. Fast die sämtlichen Angaben des Buches, ungeachtet sie nur in seltenen Fällen sich auf bisher unbekannte Tatsachen beziehen, beruhen somit auf Autopsie, und auch die sämtlichen auf botanische Objekte bezüglichen Holzschnitte sind von mir für dieses Buch neu nach der Natur gezeichnet worden. In Anmerkungen finden sich die wichtigsten, auf die behandelten Gegenstände bezüglichen Werke angeführt, aus welchen die vollständige Literatur zu gewinnen ist, und aus welchen ich selbst oft Rat und Belehrung schöpfte.

Der Herr Verleger hat für vollendete Ausstattung des Werkes die größte Mühe getragen, wofür ich ihm den verbindlichsten Dank schulde.

Bonn, März 1884.

Eduard Strasburger.

Vorwort zur siebenten Auflage.

Zum dritten Male seit dem Tode E. STRASBURGERS erscheint das „Botanische Praktikum“ in neuer Auflage.

Obgleich seit dem Erscheinen der letzten Auflage noch kein Jahr vergangen war, als der Verleger mit der Aufforderung zu einer Neuherausgabe des Werkes an mich herantrat, mußten sowohl in den wissenschaftlichen wie in den technischen Angaben manche Veränderungen erfolgen. So wurde das Buch wieder vollkommen durchgearbeitet und mit dem Stand des heutigen Wissens in Einklang gebracht. Von verschiedenen Seiten geäußerten Wünschen Rechnung tragend, wurde im XXIII. Abschnitt Saprolegnia eingehender behandelt, ferner, damit neben den anderen Algen auch die Rotalgen im Buche vertreten waren, eine Besprechung von Batrachospermum eingefügt, schließlich fanden im Anschluß an die Wasserspalten (vgl. d. VI. Abschn.) die „Hydropoten“ Erwähnung. Eingehender noch als in den früheren Auflagen wurden die Literaturbelege angegeben, und zwar aus der Absicht heraus, jedem, auch dem Fachgenossen, der den Wunsch hätte, sich in diese oder jene, ihm vielleicht ferner stehende Materie einzuarbeiten, das leicht und schnell zu ermöglichen. Im übrigen blieb das Werk innerhalb seiner ursprünglichen Aufgabe.

Wie bei den früheren Auflagen wurde vor allem eine möglichste Vollständigkeit des Wissenswerten auf mikroskopisch-technischem Gebiet angestrebt. Dies ist sowohl aus den einzelnen Abschnitten zu ersehen, wie namentlich aus dem Register IV, in dem die chemischen Angaben schon bei den letzten Auflagen stark eingeschränkt werden konnten, da in den unterdes erschienenen einschlägigen Spezialwerken (vgl. die Vorbemerkung zu Register IV) so hervorragende und reichhaltige Auskunftsmöglichkeiten entstanden waren. Was die technischen Angaben im Register IV angeht, so wurde vor allem der schon in den beiden letzten Auflagen gemachte Versuch weitergeführt, für die Vertreter aller Abteilungen des Pflanzenreichs die empfehlenswertesten Fixierungs- und Färbungsverfahren, für die niederen zudem noch in möglichster Vollständigkeit die besten Kulturmethoden bzw. literarischen Hinweise dafür anzugeben, so daß hierbei wie überhaupt bei Arbeiten, die irgendwie eingehende technische Orientierung verlangen, dieses Register unbedingt zu vergleichen ist. Um die Register-Benutzung zu erleichtern, wurde das Register IV durch Druck auf farbig getöntem Papier gekennzeichnet, was, bei der vorvorigen Auflage zuerst ein-

geführt, sich sehr bewährt hatte. Aus Zweckmäßigkeitsgründen wurde dem Register IV noch ein Verzeichnis der Bezugsquellen als Register V angefügt. Das in den letzten Auflagen mit Register V bezeichnete Gesamtregister erscheint somit als Register VI am Schluß.

Was die Register I und II angeht, so haben sie auch diesmal die Aufgabe behalten, für die rechtzeitige Beschaffung des Untersuchungsmaterials die nötigen Hinweise zu geben. Bei der Wahl des Pflanzenmaterials wurde besonders beachtet, daß auch für den Winter mindestens ein für die betreffende Untersuchung geeignetes Objekt in Vorschlag kam. Da manche Objekte eine der eigentlichen Untersuchung vorausgehende Behandlung verlangen, die unter Umständen tagelang dauern kann, so ist jedesmal zeitig die Inhaltsangabe des betreffenden Abschnitts anzusehen. Eine solche ist nicht nur am Kopf der Abschnitte, sondern auch in einem besonderen, dem Text vorangeschickten, eine schnelle Orientierung über den Inhalt eines jeden Abschnitts ermöglichenden Verzeichnis zu finden. Jedem Abschnitt ist außerdem noch, wie bei den letzten Auflagen, die Angabe der notwendigsten Reagentien, Farbstoffe und Einschlußmedien vorgesetzt; überdies sind diese in einer im Register III gegebenen Liste nochmals insgesamt zusammengestellt.

Um den Gebrauch des Buches insbesondere beim Auffinden der einzelnen Materien zu erleichtern, erhielt jede Seite des Textes eine Überschrift mit kurzgefaßter Inhaltsangabe. Auch die Register wurden zum bequemeren Nachschlagen mit Überschriften versehen. Über die im Text angegebenen Preise vergleiche die Anmerkungen auf S. 2 des Textes bzw. das Vorwort zu Register V.

Wer mit besonderer, daraufhin gerichteter Aufmerksamkeit das Werk durchsieht, wird erkennen, daß auch bei Fertigstellung dieser Auflage eine außerordentliche Arbeit bewältigt werden mußte, die zudem dadurch erschwert wurde, als die Beschaffung der notwendigen Literatur in vielen Fällen noch immer auf Schwierigkeiten stieß und sonstige durch die Nachkriegsverhältnisse veranlaßten Erschwerungen meine Arbeitszeit und -kraft stark in Anspruch nahmen. Es würde mir dabei nicht gelungen sein, die Neuauflage schon jetzt herauszubringen, wenn ich mich nicht in vielen Punkten der Unterstützung von seiten meiner früheren und jetzigen Assistenten und anderen Hilfskräfte zu erfreuen gehabt hätte. So habe ich für ihre wertvolle Mitwirkung zu danken Herrn Dr. W. Riede, Herrn Dr. G. Eberle, Herrn Dr. H. R. Bode und Frl. M. Sack. Ganz besonderen Dank schulde ich schließlich meiner Frau, die in wahrhaft aufopfernder Weise und unverdrossen ihre spärlich bemessene freie Zeit vom Beginn bis zum Abschluß der Drucklegung vollständig den Korrekturen widmete.

Zum Schluß richte ich an die Fachgenossen, insbesondere des Auslandes, die angelegentliche Bitte, noch mehr als bisher meine Arbeit durch Übersendung der neuerschienenen einschlägigen Literatur, deren Beschaffung, wie schon vorhin erwähnt, oft nur mit großer Mühe zu erreichen ist, unterstützen zu wollen.

Möchte auch diese Auflage des „Botanischen Praktikums" seine Aufgabe erfüllen und in gleicher Weise, wie die früheren, wohlwollende Aufnahme finden!

Dem Herrn Verleger, der in bereitwilligster Weise allen Wünschen betreffend Ausstattung des Werkes entgegenkam, unter anderem eine Anzahl neuer Abbildungen anfertigen ließ, sei aufrichtiger Dank gezollt.

Bonn, im Frühjahr 1923.

Max Koernicke.

Inhalts-Verzeichnis.

Einleitung
(S. 1—93).

I. Abschnitt (S. 94—116).

Gebrauch des Mikroskops. Herstellung eines Präparats. Wechsel der Objektive. Bau der Stärke und Einwirkung von Reagentien auf sie. Große, feuchte Kammer.

Objektive für Wasserimmersion und für homogene Immersion. Abbescher Beleuchtungsapparat. Zähleinrichtungen. Färbung und Korrosion der Stärke. Polarisationsapparat.

Handwerkszeug.

Beim Mikroskopieren stets zur Hand zu haben, am besten in einem Kästchen mit entsprechend großen Abteilungen aufzubewahren:

Objektträger, Deckgläser, Rasiermesser, Skalpell, Taschenmesser, Pinzette, 2 Nadeln, Pinsel, Glasstab, Uhrgläser, Holundermark, Korken, weiches Tuch, Leinenlappen oder japan. Reispapier bzw. Krepp-Papier, Fließpapier.

Untersuchungsmaterial.

Kartoffelknollen. Kartoffelmehl. Bohnenmehl. Westindisches Arrow-root. Weizenmehl. Haferkörner. Frische Stengelstücke einer Euphorbia, am besten Euphorbia helioscopia oder splendens.

Rhizome von Canna indica. Ostindisches Arrow-root. Sproßknollen von Phajus grandifolius. Roggenmehl. Klebhirsen-Stärke.

II. Abschnitt (S. 117—139).

Klebermehl. Fettes Öl. Eiweißkristalle. Herstellung von Dauerpräparaten.

Verschiedene Einschlußmedien. Wiederfinden bestimmter Stellen im Präparat. Objektmarkierer.

Untersuchungsmaterial.

Erbsen. Weizenkörner. Samen der weißen oder einer anderen Lupine. Rizinussamen. Paranüsse.

III. Abschnitt (S. 140—153).

Protoplasmastörung. Zellkern. Zeichnen mit der Kamera. Bestimmen der Vergrößerung.

Plasmolyse. Aufnahme von Farbstoffen in die lebende Zelle.

Untersuchungsmaterial.

Frische, im Öffnen begriffene Blüten von Tradescantia virginica oder von einer anderen Tradescantia-Art, oder frische, junge Kürbishaare. Frische Haare aus den Blüten einer Lamium-Art. Zwiebeln von Allium Cepa. Frische rote, blaue, violette und ähnlich gefärbte Blüten. Reife Früchte von Ligustrum vulgare. Kräftige, lebende Pflanzen von Hydrocharis morsus ranae oder von Trianea bogotensis. Frische Blätter von Vallisneria spiralis oder Sprosse von Helodea canadensis. Eine lebende Nitella-Art.

IV. Abschnitt (S. 154—168).

Chromatophoren. Farbiger Zellsaft.

Fettkörper. (Elaioplasten.)

Untersuchungsmaterial.

Frische Moospflänzchen, eine Mnium-Art oder Funaria hygrometrica. Farnprothallien. Blüten von Tropaeolum majus. Blüten von Strelitzia reginae. Mohrrübe. Blüten von Verbascum nigrum. Blüten von Vinca major oder minor. Blüten einer roten Rose. Blüten von Delphinium consolida. Blutfarbige Laubblätter, auch Blätter von Rotkohl. Herbstlich rote Blätter von Parthenocissus quinquefolia. Herbstlich gelbe Blätter von Ginkgo biloba oder von Ahorn-Arten. Sproßknollen von Phajus grandifolius. Rhizom von Iris germanica. Stengel von Pellionia Daveauana.

Hagebutten oder Früchte von Crataegus coccinea, oder von Asparagus officinalis, oder von Lycopersicum esculentum. Blüten von Doronicum oder einer gelbblühenden Chrysanthemum-Art. Blüten von Antirrhinum majus. Blüten von Adonis flammeus oder rotblühende Aloë-Arten. Früchte von Solanum nigrum. Blüten von Ornithogalum, oder Gagea, oder von Funkia coerulea, oder Blätter von Vanilla planifolia.

V. Abschnitt (S. 169—194).

Gewebe, Wandverdickung. Reaktionen auf Zellulose, Zucker, Inulin, Gerbstoff. Strukturen der Zellwandung.

Reaktionen auf Zellulose, Pektinstoffe, Zucker, Nitrate und Nitrite, Ammoniak, Amide, Phosphate, Kalzium.

Untersuchungsmaterial.

Weiße Zuckerrübe. Reife Birne. Frische Dahlia-Knollen und solche, die mindestens 8 Tage in 50-proz. Alkohol verweilt haben. Stengel von Vinca major oder minor. Samen von Ornithogalum umbellatum oder einer anderen nahe verwandten Art. Dattelkerne.

Stengel von Helianthus tuberosus. Vergeilte, 8 Tage alte Lupinus-Keimlinge oder vergeilte Dahlia-Sprosse. Fleischige Euphorbien, etwa Euphorbia Caput Medusae. Grüne Stengel einer Rose. Galläpfel.

VI. Abschnitt (S. 195—210).

Handmikrotome. Epidermis. Spaltöffnungen.

Transpirationsversuche. Kobaltprobe. Infiltrationsmethode. Gasdiffusionsmethode. Elektrische Objektträger. „Hydropoten.“ Sammellinsen.

Untersuchungsmaterial.

Blätter von Iris florentina oder einer anderen Iris-Art. Blätter einer Hyacinthus-Art. Blätter von Tradescantia virginica. Blätter von Lilium candidum. Blattstück von Aloë nigricans. Blätter von Tropaeolum majus. Blätter von Campanula persicifolia. Alle Blätter sind frisch zu untersuchen, aber auch als Alkoholmaterial verwendbar.

Blätter von Tradescantia zebrina. Blätter von Sedum Telephium. Blätter von Mercurialis annua. Blätter von Aneimia fraxinifolia. Blätter von Nerium Oleander. Blätter von Fuchsien. Schwimmende bzw. untergetauchte Blätter oder Stengel von Sagittaria sagittifolia oder S. natans.

VII. Abschnitt (S. 211—223).

Haare. Emergenzen. Schleim. Gummi und Harz. Wachs.

Aggregationserscheinungen. Blauglanz.

Untersuchungsmaterial.

Blätter von Cheiranthus Cheiri. Blätter von Matthiola annua. Blüten von Centaurea Jacea oder von C. Cyanus. Blüten von Verbascum nigrum. Blätter von Verbascum thapsiforme. Blätter von Shepherdia canadensis oder von Elaeagnus angustifolia. Stengel einer Rosa-Art. Junge Sprosse von Urtica dioica oder U. urens. Sprosse von Primula sinensis oder von Pelargonium zonale. Winterknospen der Roßkastanie. Blätter von Echeveria globosa. Blätter von Eucalyptus globulus. Stengel von Secale cereale. Stengel von Saccharum officinarum. Alle diese Objekte frisch, die Winterknospen der Roßkastanie eventuell als Alkoholmaterial.

Blüten von Viola tricolor. Junge Wedel von Asplenium bulbiferum. Blattscheiden von Rumex Patientia. Blätter von Drosera rotundifolia. Blätter von Selaginella laevigata oder S. caesia, ferner von Glechoma hederacea oder Sambucus nigra.

VIII. Abschnitt (S. 224—241).

Geschlossene, kollaterale Leitbündel. Färbung, Einbettung und Verschluß der Präparate. Kristalle. Dickenwachstum der Monokotylen. Amphivasale Leitbündel. Raphiden.

Untersuchungsmaterial.

Stengelstücke von Zea Mays, oder von Avena sativa, oder einer anderen Graminee, und zwar Alkoholmaterial. Stammstücke von Dracaena (Cordyline) rubra, frisch oder Alkoholmaterial.

Blätter von Iris florentina. Alkoholmaterial.

IX. Abschnitt (S. 242—259).

Offene, kollaterale Leitbündel. Milchgefäße. Dickenwachstum der Dikotylen.

„Statolithen." Bikollaterale Leitbündel. Siebröhren. Kallose. Leptomin. Elemente des sekundären Zuwachses. Mazerationsverfahren.

Untersuchungsmaterial.

Ausläufer von Ranunculus repens, frisch oder in Alkohol. Stengel von Chelidonium majus, Alkoholmaterial. Zweige von Aristolochia Sipho, 3 bis 4 mm dick, im Juni in Alkohol eingelegt oder um diese Zeit frisch untersucht.

Stengel von Ranunculus acer, frisch oder in Alkohol. Stengel von Cucurbita Pepo, frisches und Alkoholmaterial.

X. Abschnitt (S. 260—278).

Bau des Koniferen-Stammes. Kambiumtätigkeit. Elemente des sekundären Zuwachses. Harzreaktionen.

Holzstoffreaktionen. Herstellung von Serienschnitten aus harten Pflanzenteilen.

Untersuchungsmaterial.

Stücke aus einem starken Stamm der Kiefer, im Juni in Alkohol eingelegt; einige Tage vor der Untersuchung in ein Gemisch von gleichen Teilen Alkohol und Glyzerin übertragen. Außerdem ein frisches Stammstück.

XI. Abschnitt (S. 279—287).

Bau des Lindenstammes.

Länge der Gefäße. Bau des Robinienstammes. Thyllen. Ablagerungen von Kalziumkarbonat.

Untersuchungsmaterial.

Stamm- und Zweigstücke von Tilia parvifolia. Zweige, 5 mm dick, frisch; so auch dickere Aststücke, frisch. Stücke aus einem möglichst starken Stamm, vom Holzkörper bis zur Oberfläche reichend, in Alkohol aufbewahrt, dann für die Untersuchung durch Einlegen in gleiche Teile von Alkohol und Glyzerin vorbereitet.

Stammstücke von Robinia Pseudacacia, Alkoholmaterial.

XII. Abschnitt (S. 288—302).

Zentralzylinder und sekundäres Dickenwachstum der Wurzel.

Luftwurzeln der Orchideen. Zuwachs in konzentrischen Kreisen.

Untersuchungsmaterial.

Ausgewaschene Wurzeln von Allium Cepa, frisch oder in Alkohol, evtl. an ihrer Stelle ebensolches Material von Hyacinthus orientalis. Wurzeln von Acorus Calamus, frisch oder in Alkohol. Ebensolches Material von Iris florentina. Junge und ältere Wurzeln von Taxus baccata und Dracaena, frisch oder in Alkohol.

Wurzeln von Iris pumila und Ranunculus repens. Luftwurzeln von Dendrobium nobile oder einer anderen epiphytischen Orchidee. Zuckerrübe oder rote Rübe. Alle diese Objekte frisch.

XIII. Abschnitt (S. 303—311).

Die Leitbündelstränge der Pteridophyten.

Interzellulare Strukturen aus Pektinstoffen. Bau der Wurzeln bei Pteridophyten.

Untersuchungsmaterial.

Junge Blattstiele oder junge Rhizome von Pteridium aquilinum, frisch oder in Alkohol. Stengel von Lycopodium complanatum oder einer anderen Lycopodium-Art, frisch oder in Alkohol.

Vegetative Sprosse von Equisetum arvense oder einer anderen Equisetum-Art.

XIV. Abschnitt (S. 312—322).

Periderm. Kork, Lentizellen. Suberin. Kutin, kutisierende Stoffe.

Wundgummi. Gummosis.

Untersuchungsmaterial.

Noch grüne, sowie grauwerdende und braungewordene Zweigstücke von Sambucus nigra, frisch, evtl. in Alkohol. Stücke älterer Zweige von Laburnum vulgare. Flaschenkork. Stücke jüngerer und älterer Zweige von Ribes rubrum.

Ältere Stammstücke der Kiefer. Kartoffelknollen. Ältere Stammstücke des Kirschbaums. Gummikranke Stücke des Kirschbaums.

XV. Abschnitt (S. 323—344).

Bau der Laubblätter. Bau der Blumenblätter.

Ölbehälter. Zystolithen. Enzymschläuche. Leitbündelendigungen. Leitungsbahnen der Kohlenhydrate im Blatt. Makroskopischer Nachweis von Stärke und Eiweiß im Blatt. Epitheme. Blattfall.

Untersuchungsmaterial.

Frische Blätter von Ruta graveolens bzw. von Callistemon coccineus, oder von Helleborus niger oder einer anderen Helleborus-Art, oder von Syringa vulgaris. Blüten von Verbascum nigrum und von Papaver Rhoeas frisch oder in Alkohol.

Blätter von Fagus silvatica. Blätter von Ficus elastica. Blätter von Raphanus sativus. Blätter von Impatiens parviflora. Blätter von Cucurbita Pepo. Blätter von Tropaeolum majus. Blätter von Saxifraga Aïzoon. Beblätterte Zweige von Aesculus Hippocastanum im Herbst. Ebenso von Gymnocladus canadensis oder von Aïlanthus glandulosa, oder von Fraxinus excelsior, oder von Juglans regia. Sämtlich womöglich frisch.

XVI. Abschnitt (S. 345—362).

Vegetationskegel des Stammes. Präparier-Mikroskop. Sonderung der Gewebe.

Anordnung der Zellen. Sichtbarmachen der Zellwände. Scheitelzellen und deren Teilung. Leitbündelverlauf.

Untersuchungsmaterial.

Sproßspitzen von Hippuris vulgaris, oder von Helodea canadensis, oder von Myriophyllum- bzw. Ceratophyllum-Arten, frisch oder in Alkohol. Sproßenden von Evonymus japonica, oder von einer anderen Strauch- oder Baum-Art mit dekussierten Blättern, frisch oder in Alkohol.

Sproßenden von Equisetum-Arten.

XVII. Abschnitt (S. 363—374).

Vegetationskegel der Wurzel.

Inverse Tinktion. Verzweigung der Wurzeln. Scheitelzellen der Wurzeln.

Untersuchungsmaterial.

Wurzeln von Hordeum vulgare oder einer anderen Graminee, frisch. Wurzeln von Pteris cretica oder eines anderen Farns, frisch oder in Alkohol.

Wurzeln von Pisum sativum, oder von Aconitum napellus, oder von Brassica napus, ferner von Helianthus annuus. Wurzeln von Thuja occidentalis und Taxus baccata. Alle diese Objekte womöglich frisch.

XVIII. Abschnitt (S. 375—385).

Vegetativer Aufbau der Bryophyten.

Untersuchungsmaterial.

Mnium undulatum, oder eine andere Mnium-Art, oder eine Bryum-Art. Sphagnum acutifolium, oder eine andere Sphagnum-Art. Alles frisch bzw., falls frisches Material nicht zu erlangen ist, aufgeweichtes Herbarmaterial. Marchantia polymorpha.

Polytrichum. Metzgeria furcata.

XXII. Abschnitt (S. 481—501).

Fortpflanzung der Algen.

Mittel, um die Bildung von Schwärmsporen oder Geschlechtsprodukten bei Algen zu veranlassen. Festhalten kleiner Organismen zu Beobachtungszwecken. Fixierung und Färbung der Kerne, Schwärmsporen und Geschlechtsprodukte. Fixierung und Weiterbehandlung kleiner Objekte. Parthenogenese. Merogonie.

Untersuchungsmaterial.

Kopulierende Spirogyren, frisch, evtl. mit 1-proz. Chromsäure fixiert und in Wasser, dem etwas Kampfer zugesetzt wurde, aufbewahrt. Cladophora glomerata, frisch. Vaucheria sessilis, die terrestre Form, besser noch die in fließendem Wasser lebende, frisch. Für Schwärmsporenbildung sind Cladophora und Vaucheria tags zuvor zu sammeln und in flache Schalen mit Wasser zu legen; Geschlechtsorgane von Vaucheria sind an 8 Tage alten Kulturen in 2—5-proz. Zuckerlösung zu erlangen.

Protosiphon botryoides und Botrydium granulatum in verschiedenen Entwicklungszuständen, frisch. Ulothrix zonata, frisch. Geschlechtsreifer Fucus vesiculosus, frisch. Batrachospermum moniliforme, fruktifizierend, im Spätsommer zu sammeln, frisch oder in Alkohol.

XXIII. Abschnitt (S. 502—520).

Fortpflanzung der Pilze.

Fixieren und Färben der Pilze. Pilzkulturen auf dem Objektträger. Verschiedene Nährböden und Nährflüssigkeiten für Pilze. Feuchte Kammern. Chemotropismus der Pilze. Eindringen der Keimschläuche in die Nährpflanze.

Untersuchungsmaterial.

Mucor Mucedo. Phytophthora infestans. Penicillium crustaceum. Alle diese Objekte frisch. Saprolegnia monoica, frisch.

XXIV. Abschnitt (S. 521—539).

Fortpflanzung der Pilze, Flechten und Myxomyceten.

Kernverschmelzungen und Kernteilungen im Ascus der Ascomyceten. Bau, Reinkultur und Sporenbildung der Hefe. Entwicklung und Bau der Myxomyceten.

Untersuchungsmaterial.

Morchella esculenta, frisch, oder in Alkohol, oder aufgeweicht. Hefe, frisch. Eine Amanita-, Psalliota- oder Russula-Art, frisch, oder in Alkohol. Fruktifizierende Anaptychia ciliaris, frisch oder aufgeweicht.

Didymium (Chondrioderma) difforme. Fuligo varians. Beide frisch. Plasmodiophora Brassicae, fixiert in Chrom-Osmium-Essigsäure.

XXV. Abschnitt (S. 540—552).

Fortpflanzung der Bryophyten. Geschlechtsorgane. Sporogone und Sporen.

Fixierung und Färbung der Spermatozoiden. Ausbildung des Peristoms.

Untersuchungsmaterial.

Marchantia polymorpha mit Brutkörpern, auch männliche und weibliche Pflanzen mit den die Geschlechtsorgane und Sporogone bergenden Rezeptakeln, frisch, evtl. in Alkohol. Mnium hornum mit Geschlechtsorganen und Sporogonen. Polytrichum juniperinum mit Geschlechtsorganen. Alle diese Objekte frisch.

Funaria hygrometrica mit Sporogonen.

XXVI. Abschnitt (S. 553—571).

Fortpflanzung der Pteridophyten. Sporangien. Prothallien. Geschlechtsorgane.

Fixierung und Färbung der Farnspermatozoiden. Dunkelfeldbeleuchtung. Befruchtungsvorgang bei Farnen.

Untersuchungsmaterial.

Sporentragende Blätter von Scolopendrium vulgare und Dryopteris (Aspidium) Filix mas, frisch oder in Alkohol. Polypodium vulgare, Prothallien mit Geschlechtsorganen, frisch.

Ceratopteris thalictroides, Prothallien mit Geschlechtsorganen. Equisetum limosum, fruktifizierend. Lycopodium Selago, fruktifizierend, oder Lycopodium clavatum. Selaginella Martensii, fruktifizierend. Salvinia natans, fruktifizierend. Die Prothallien frisch, die anderen Objekte frisch oder Alkoholmaterial, von Selaginella unter Umständen aufgeweichtes Herbarmaterial.

XXVII. Abschnitt (S. 572—585).

Fortpflanzung der Gymnospermen. Membranstoffe des Pollens. Innenkörper des Pollenkorns. Öffnungsmechanismus der Antheren. Befruchtungsvorgang. Keim.

Keimentwicklung.

Untersuchungsmaterial.

Männliche Blüten von Pinus silvestris zur Blütezeit, etwa Ende Mai in Alkohol eingelegt. Um die nämliche Zeit in Alkohol eingelegte weibliche, erstjährige Zäpfchen, welche aufrecht die Enden neuer Triebe einnehmen. Picea excelsa, junge Zapfen zur Befruchtungszeit in Alkohol fixiert bzw. auch anders fixierte Samenanlagen; Zapfen mit reifen Samen, frisches oder Alkoholmaterial. Das Alkoholmaterial ist vor der Untersuchung für mindestens 24 Stunden in ein Gemisch gleicher Teile Alkohol und Glyzerin einzulegen.

Taxus baccata, männliche und weibliche Blüten. In Alkohol eingelegte, erstjährige Zapfen von Picea excelsa, von Mitte Mai bis Ende Juni alle 8 Tage frisches Material in Alkohol eingelegt. Pinus silvestris, Zapfen mit jungen Keimanlagen, Alkoholmaterial.

XXVIII. Abschnitt (S. 586—603).

Das Androeceum der Angiospermen. Membranstoffe des Pollens. Öffnungsmechanismus der Antheren. Inhalt des Pollenkorns. Aufhellungsmittel.

Membranstoffe der Pollenmutterzellen. Schnitte durch Pollenkörner. Pollenschlauchkulturen. Chemotropismus und andere Tropismen der Pollenschläuche.

Untersuchungsmaterial.

Hemerocallis fulva, Blüten und Blütenknospen, letztere in allen Entwicklungszuständen, frisch oder in Alkohol. An Stelle von Hemerocallis können Lilium oder Funkia, Agapanthus oder Iris, Tulipa oder Hyacinthus treten. Tradescantia virginica, frische Blüten oder Blüten von Leucojum oder anderen Liliifloren. Oenothera biennis, frische Blüten, oder Epilobium, oder Fuchsia. Althaea rosea oder eine andere Malvacee, frische Blüten Cucurbita, frische männliche Blüten. Calluna vulgaris, oder Erica, Azalea bzw. Rhododendron, frische Blüten. Frische Blüten von Acacia.

Frische Blüten von Epipactis palustris, Gymnadenia conopea, Avena elatior. Mirabilis Jalapa, Allium, Tulipa, Leucojum, Narcissus, Convallaria, Iris, Torenia, Gloxinia, Lathyrus u. a.

XXIX. Abschnitt (S. 604—626).

Das Gynaeceum der Angiospermen. Fruchtknoten. Samenanlage. Befruchtung.

Weg der Pollenschläuche innerhalb des Griffels. Entwicklungsgeschichte der Samenanlagen. Behandlung der sich in Alkohol bräunenden Pflanzen. Anlage des Endosperms. Blütenentwicklung.

Untersuchungsmaterial.

Delphinium Ajacis, blühend und fruchtend, frisch oder in Alkohol. Blüten der Tulpe, Hyacinthe, Lilie oder Hemerocallis, frisch oder in Alkohol. Epipactis palustris oder eine andere Orchidee, blühend, frisch. Oenothera biennis, blühend, frisch. Aconitum Napellus, im Verblühen, frisch oder in Alkohol. Monotropa Hypopitys oder Gloxinia hybrida, im Verblühen, womöglich frisch. Torenia asiatica, bestäubte Blüten, frisch. Orchideen verblüht.

Butomus umbellatus, blühend. Solanum tuberosum, blühend. Papaver Rhoeas, blühend. Linum perenne, blühend. Datura Stramonium, blühend. Primula, blühend. Polygonum orientale, blühend. Liliaceen, Epipactis palustris, Atropa Belladonna. Gramineen, Agrostemma Githago, Malvaceen, Blüten nach erfolgter Bestäubung. Monotropa Hypopitys mit Blütenknospen und Blüten. Alle diese Objekte frisch. Brassica napus, in der Entwicklung begriffene Blütenstände.

XXX. Abschnitt (S. 627—649).

Bau des Samens der Angiospermen. Samenschale. Keim. Keimentwicklung.

Entwicklungsgeschichte der Samenschale. Entstehung der Schleimschichten. Zellfolge in der Keimanlage. Entwicklung der Fruchtwandung. Keimung. Reduzierte Keime. Polyembryonie. Adventivkeime. Apogamie. Parthenogenesis.

Untersuchungsmaterial.

Capsella Bursa pastoris, fruchtend, frisch oder in Alkohol. Alisma Plantago, fruchtend, frisch oder in Alkohol.

Triticum vulgare, alle Entwicklungszustände der Fruchtanlage und reifen Frucht. Orchis pallens, Gymnadenia conopea, Epipactis palustris, oder eine andere Orchidee, fortgeschrittene Fruchtanlagen. Monotropa, ältere Fruchtanlagen. Funkia ovata, Fruchtanlagen. Nothoscordon fragrans, Fruchtanlagen. Alle diese Objekte frisch oder in Alkohol.

XXXI. Abschnitt (S. 650—661).

Die Frucht der Angiospermen. Bau der Fruchtwandung und des Samens.

Herstellung von Dünnschliffen. Entwicklungsgeschichte der Frucht. Pflanzenschleim-Reaktionen, -Härtung, -Färbung.

Untersuchungsmaterial.

Reife Pflaume oder reife Kirsche. Reifer Apfel. Reife Orange.

Orangenfrüchte in allen Entwicklungszuständen. Salvia Horminum, reife Früchte. Linum usitatissimum, reife Früchte.

Berichtigung.

Einleitung.

Wahl eines Mikroskops. Instrumente für Anfänger. Instrumente für Fortgeschrittene. Stative. Hauchschirme. Objektive und Okulare. Wechsel der Objektive. Beleuchtung. Dunkelfeldbeleuchtung und Ultramikroskopie. Monokulare Präpariermikroskope. Bildaufrichtende Prismen und Okulare. Binokulares Mikroskop und Präpariermikroskop. Vergleichsmikroskop. Lupen. Zeichenapparate. Meß- und Zählapparate. Polarisationsapparat. Wärmeregulatoren. Arbeitstisch. Lichtquellen. Bewegliche Objekttische. Objektträger und Deckgläser. Andere Utensilien. Luftpumpen. Reagentien. Präparatenkästen. Mikrotome und die mikrotomische Technik. Mikrotommesser. Schneiden der Objekte. Fixierung und Härtung der Objekte. Einbettung der Objekte. Paraffineinbettung. Einzelschnitte und Schnittbänder. Aufkleben der Schnitte. Zelloidineinbettung. Einbettung in Glyzerin-Gelatine. Färbung der Schnitte. Bezugsquellen für Farbstoffe. Mikrophotographie und Projektion.

In den botanischen Instituten der Hochschulen findet der Praktikant die Instrumente vor, die er für seine Studien braucht. Wer, ohne ein botanisches Institut zu besuchen, sich mit Hilfe dieses Buches in die mikroskopische Botanik einarbeiten will, dem empfehlen wir, eine Wahl unter den hier vorgeschlagenen Instrumenten zu treffen.

Zuvor muß aber ein jeder darüber im klaren sein, ob er seine mikroskopischen Studien einschränken oder sie über alle Gebiete der Forschung ausdehnen will. Ist es ihm nur darum zu tun, eine allgemeine Orientierung über die mikroskopische Botanik zu gewinnen, so wird er mit einem relativ einfachen und dementsprechend billigen Instrument auskommen; beabsichtigt er sich später selbständig an der mikroskopischen Forschung zu beteiligen, so darf er von vornherein die Ausgabe für ein größeres, entsprechend ausgerüstetes Instrument nicht scheuen.

Demgemäß führen wir hier zwei Reihen von Kombinationen vor. Die erste Reihe umfaßt Mikroskope, die zwar allen Bedürfnissen des Anfängers genügen, aber nicht auf Vergrößerungen von über 650 eingerichtet sind; die zweite solche Instrumente, die jede Steigerung der Vergrößerung zulassen und auch den höchsten Ansprüchen an die optische Leistung genügen.

Die in der ersten Reihe genannten Mikroskope werden jetzt allgemein in den botanischen Instituten der Hochschulen bei den Übungen der Anfänger benutzt; die Instrumente der zweiten Reihe bleiben dort den selbständig Arbeitenden vorbehalten.

Erste Reihe.

Instrumente für Anfänger.

C. Zeiss-Jena, Druckschrift Mikro 259 (1914). Stativ V A mit grober Einstellung durch Zahn und Trieb (ähnlich der Fig. 56), mit vierfachem Revolver, den achromatischen Objektiven (Objektivsystemen, Systemen) 8 und 40 und den Huyghensschen Okularen 5x (2), 10x (4) und 15x (5). Dieses Instrument läßt Vergrößerungen von 40—600 zu und kostet mit 3 verschiebbaren Blenden am Stativ ohne Kippe 6324 M. Dasselbe Instrument zum Umlegen eingerichtet 400 M mehr[1].

E. Leitz-Wetzlar. Katalogauszug über Mikroskope, 1921, Stativ GH Nr. 3 mit Gelenk zur Neigung des Oberteils, Zahn und Trieb, Feineinstellung mittels neuer Kugelmikrometerschraube, Tubusauszug mit Millimetereinteilung, ausgebuchtetem Handgriff, großem Tisch, mit zweifachem Revolver, mit den Objektiven 3 und 7 und den Okularen I und III. Dieses Instrument liefert Vergrößerungen von 51—500 und kostet mit Zylinderblende und drei Einsätzen 6200 M.

W. & H. Seibert-Wetzlar, Katalog 44 von 1922. Stativ 4c mit zweifachem Revolver, den Objektiven 2, $5^1/_2$, den Okularen 1, 3. Vergrößerungen 75—650. Mit Schrank 6200 M.

R. Winkel-Göttingen, Stativ 1f M/2 zum Umlegen, mit Zahn und Trieb, seitlicher Mikrometerschraube, zweifachem Revolver, den Achromaten 3, 6 und den Okularen 2, 4 (Vergrößerung 79—540) und Schrank. Preis 9000 M. — Ein ähnlich ausgerüstetes Instrument Stativ 4, mittlerer Größe, aber Mikrometerschraube oben, zum Umlegen mit Tisch-Irisblende, kostet 6720 M.

E. Hartnack-Potsdam, Katalog von 1915. Stativ III A mit Zahn und Trieb, mit den Objektiven 4 und 7 und den Okularen 2 und 3. Revolver für 2 Objektive. Vergrößerungen von 80—600. Preis 4070 M. Mit Scharnier zum Umlegen des Oberteils 360 M und mit Beleuchtungsapparat samt Irisblende 750 M mehr.

Von ausländischen Bezugsquellen wären zu nennen:

C. Reichert-Wien, Katalog DS 6. Stativ C (3), zum Umlegen eingerichtet, mit Zahn und Trieb, zweifachem Revolver, den Objektiven 3 und 7a und den Okularen II, IV. Vergrößerung 40—650. Mit Drehscheibenblende 6400 M, mit Abbeschem Kondensor (B), mit Schraube zum Heben und Senken, Irisblende mit Ring zum Einlegen einer matten oder gefärbten Glasscheibe oder einer Sternblende 1800 M mehr.

Stiassnie-Paris, Stativ VIII mit Zahn und Trieb, den Objektiven 2 und 5 und den Okularen I und III. Vergrößerung 34—450. Drehbare Blendscheibe. Preis 412.50 Fr. Mit zweifachem Revolver 60.50 Fr mehr.

F. Koristka-Mailand, Katalog Nr. 27, 1921. (Ital. Ausgabe.) Stativ DDc zum Umlegen eingerichtet, mit Zahn und Trieb, zweifachem Revolver, den Objektiven 3 und 7*, den Okularen 2, 3, 4. Vergrößerung 60—525, Irisblende. Preis 774 it. £.

[1]) Sämtliche Preisangaben beziehen sich auf die am 1. Mai 1922 gültigen Preise; sie werden bei der heutigen unsicheren Wirtschaftslage einer weiteren Steigerung unterliegen. Die Preisnotierungen können in der jetzigen Zeit für die Firmen nicht bindend sein; sie sollen nur eine Vorstellung über den heutigen Wert vermitteln.

Die grobe Einstellung wird selbst bei den einfacheren Instrumenten nur selten noch mit der Hand, durch Verschiebung des Tubus innerhalb der Hülse, vollzogen; die Anwendung der Zahn- und Triebbewegung für grobe Einstellung ist immer mehr verallgemeinert worden und hat großen Anklang gefunden, so daß, da der Preis kein erheblich höherer ist, auch derartig ausgerüstete Instrumente in den vorigen Angaben besondere Berücksichtigung fanden. Die feine Einstellung erfolgt durch Mikrometerschraube, der Wechsel der Objektive nur selten noch durch deren Ab- und Anschrauben am Tubus, vielmehr fast allgemein vermittels eines Revolvers oder eines Schlittenstücks, die einen schnelleren Objektivwechsel ermöglichen.

Die bisher genannten Stative vertragen starke Trockensysteme, sind dagegen für Immersionssysteme nicht eigentlich eingerichtet. Immerhin lassen sich auch letztere bei einiger Vorsicht an ihnen verwenden. Doch wird dann die Benutzung eines besonderen Beleuchtungsapparates notwendig, den die meisten Optiker auch für die angeführten Stative liefern. Zur Ergänzung des Instruments wären dann etwa anzuraten: Bei *Zeiss* das Trockensystem 90, num. Ap. 0,90 (F) für 2880 M, eine Vergrößerung bis 1350 ergebend. Das Beleuchtungssystem Nr. 11 43 20 für 1160 M, dann evtl. das Wasser-Immersionssystem 90, num. Ap. 1,18 (J) mit Korrektion für 4000 M, Vergr. bis 1350, oder das homogene Immersionssystem (Oel-Immersionstystem) 90 num. Ap. 1,25 (1/12) Nr. 11 10 92 für 4000 M, Vergr. bis 1350. — Bei *Leitz* der Kondensor c für 1000 M, das stärkere Objektiv 9 für 2800 M, Vergrößerungen bis 1022 oder auch die Wasser-Immersion 10 für 2800 M, Vergrößerungen bis 1090, oder die homogene Oel-Immersion 1/12 für 4000 M, Vergrößerungen bis 1260. Sämtliche Vergrößerungen gelten für das mittelstarke periplanatische Okular 12x, das dem Huyghensschen Okular V entspricht. — Bei *Seibert* der einfache Beleuchtungsapparat Nr. 41 für 800 M und die homogene Immersion 1/12 für 4000 M, Vergr. bis 1220. — Bei *Winkel* der einfache Beleuchtungsapparat Nr. 3 mit Irisblende für 800 M, die Wasserimmersion 2 mm für 4800 M, Vergr. bis 1380. — Bei *Hartnack* die homogene Immersion 1/12 für 2700 M, Vergr. bei Okular 5 1200, bei Okular 6 1800. — Bei *Reichert* der einfache Kondensor C mit Irisblende für 800 M, die Wasserimmersion 10 für 2800 M, Vergr. bis 1280. Homogene Immersion 18b, 1/12, mit Vergr. bis 1350, für 4000 M. — Bei *Stiassnie* etwa nur das stärkere Trockensystem 8 für 137,50 Fr, ohne einen Beleuchtungsapparat, da diesen das empfohlene Stativ nicht zuläßt, Vergr. bis 864. — Bei *Koristka* ein vereinfachter Abbescher Beleuchtungsapparat, der das Stativ DDc um 45 it. £ verteuert, und die homogene Immersion 1/12 für 390 it. £, Vergr. bis 970.

Die bei den einzelnen Instrumenten angeführten Vergrößerungen gelten meist für eine Tubuslänge von 160 mm und für einen Bildabstand von 250 mm, so bei *Zeiss*, *Hartnack*, *Reichert*, *Stiassnie* und *Koristka*; *Leitz*, *Seibert* und *Winkel* hingegen berechnen sie bei 170 mm Tubuslänge und 250 mm Bildabstand. Ist der Tubus durch Ausziehen zu verlängern, so werden, wenn dies geschieht, die Vergrößerungen entsprechend stärker; sie wachsen beispielsweise an dem empfohlenen Instrument von *Stiassnie*, das mit den Objektiven 2 und 5 ausgerüstet ist, bei Anwendung des Okulars III, wenn der Tubus von 160 auf 200 mm verlängert wird, von 75 und 135 auf 440 und 825.

Zweite Reihe.

Instrumente für Fortgeschrittene.

C. Zeiss. Stativ BCD Nr. 12 27 06 mit umlegbarem Oberteil. Grobe Einstellung des Tubus durch Zahn und Trieb, feine Einstellung durch eine mit Teilung versehene seitliche Mikrometerschraube. Objekttisch mit Hartgummi-Drehscheibe von 100 mm Durchmesser, die durch 2 Schrauben bewegt werden kann. Abbescher Beleuchtungsapparat mit Irisblende und Beleuchtungssystem, mit seitlicher Bewegung, Preis 10640 M. Dann der Kondensor Nr. 11 43 20 num. Ap. 1,2 für 1160 M, die apochromatischen Trockensysteme 20 0,65 (8 mm) für 3720 M, 40 0,95 (4 mm) für 4800 M und die homogene Immersion 90 1,30 (2 mm) für 7680 M. Dazu ein Revolver für 1000 M, der neuerdings von *Zeiss* nur noch für die Aufnahme von vier Objektiven eingerichtet geliefert wird, bzw. ein Tubusschlitten, Nr. 12 12 10 und 3 Objektivschlitten Nr. 12 12 11 zusammen zu 1280 M. Endlich die Kompensationsokulare 3x (2), 5x (4), 10x (8), 15x (12) und 20x (18) für 3320 M. Zusammen 32 440 bzw. 33 600 M. Die optischen Kombinationen dieses Mikroskops geben Vergrößerungen von 60 bis 1800. Wer die bedeutende Ausgabe für Apochromate scheut, kann dasselbe Stativ mit den Trockensystemen 8 (A) und 40 num. Ap. 0,65 (D), der Wasserimmersion 90 num. Ap. 1,18 (I) oder der homogenen Immersion 90 num. Ap. 1,25 ($^1/_{12}$) und den Huyghensschen Okularen 5x, 10x und 15x ausrüsten. Ein solches Instrument würde, den Revolver inbegriffen, 19 524 M kosten und Vergrößerungen von 40 bis 1350 gestatten.

E. Leitz. Stativ C Nr. 1, dem Stativ IIID von *Zeiss* in der Einrichtung entsprechend. Mit den Objektiven 2, 4, 6 der homogenen Oel-Immersion $^1/_{12}$, den Okularen I, III, IV, V und mit dreifachem Revolver. Vergrößerungen von 29—1260. Preis 17800 M. Dieses Instrument hat sich sehr bewährt und ist sehr preiswert. Gilt es, zum Zwecke schwieriger Untersuchungen die Vergrößerung noch zu steigern, so wählt man die homogene Oel-Immersion $^1/_{16}$ an Stelle von $^1/_{12}$, wodurch der Preis um 2000 M steigt. Auch Apochromate, Fluoritsysteme und Kompensationsokulare werden von *Leitz* geliefert. Die homogene Immersion $^1/_{16}$ ist z. B. ein Fluoritsystem.

W. & H. Seibert. Stativ 1, dem Stativ III D von *Zeiss* in der Einrichtung entsprechend, mit beweglichem Objekttisch, Revolver für 3 Objektive, den achromatischen Objektiven 1, 2, 4, 5, homogener Immersion $^1/_{12}$ und den Okularen 0, 1, 2, 3, letzteres mit Mikrometer, Vergrößerung 25—1480, für 25 600 M (1a des Katalogs Nr. 44, 1922). Ein ähnliches, doch etwas kleineres und einfacheres Stativ 2 kostet mit derselben optischen Ausrüstung 19 000 M, ein Stativ 3 mit den Objektiven 2, 5 und der homogenen Immersion $^1/_{12}$, sowie den Okularen 1, 2, 3 14 200 M. Ebenso liefert *Seibert* Apochromat-Objektive und Kompensationsokulare zu etwas niedrigeren Preisen.

R. Winkel. Stativ 1e M mit großem Abbeschem Beleuchtungsapparat 1 und exzentrisch stellbarer Irisblende, Preis 7200 M. Ein gleiches Stativ 1e L mit rundem, durch Schrauben verstellbarem Drehtisch 8000 M. Wird statt des Beleuchtungsapparates 1 derjenige Nr. 2, bei welchem die Irisblende nicht exzentrisch stellbar ist, gewählt, dann kostet das Stativ (1e L/2) 800 M weniger. An dem Stativ ist die Mikrometerschraube bzw. der Drehknopf der Schraube mit Teilung und Index versehen. Die Ver-

stellung von Teilstrich zu Teilstrich beträgt 4 μ. Die Trockensysteme 3, 6, 9 kosten 5320 M, letzteres mit Korrektionsfassung (vgl. S. 11) 800 M mehr, und würden mit dem stärksten Okular 5 eine Vergrößerung bis 1620 erzielen. Die homogene Immersion $^1/_8$ mm kostet 4000 M. *Winkel* liefert zur Erzielung eines sehr ebenen Bildfeldes für seine Achromate besondere komplanatische Okulare im Preise von je 520 M. Sie entsprechen seinen mit gleichen Nummern versehenen, gewöhnlichen Huyghensschen Okularen. Die stärkste Vergrößerung mit Okular 5 würde danach 1620 betragen. Revolver für 3 Objektive 800 M. Außerdem fertigt *Winkel* Apochromate und Fluoritsysteme an. Letztere kommen in ihren Leistungen den Apochromaten sehr nahe, sind jedoch infolge ihrer einfacheren Konstruktion erheblich billiger.

E. Hartnack. Stativ VB (Katalog von 1915), dem Stativ III D von *Zeiss* fast entsprechend, mit den Objektiven 4, 7, homogener Immersion $^1/_{12}$, den Okularen 2, 3, 4, Revolver für 3 Systeme. Vergr. 80 bis 1000. Preis 13500 M. Mit Gelenkkondensor und Zylinderirisblende 600 M mehr.

C. Reichert. Großes Universalstativ A I mit besonders weitem Tubus für Mikrophotographie und Projektion, Objekttisch mit Hartgummiplatte, 120 mm Durchmesser, dreh- und zentrierbar, Beleuchtungsapparat mit großem ausklappbaren Abbe-Kondensor und 2 Irisblenden. Revolver für 3 Objektive, Objektiv 16, Hartapochromate 16 mm, 8 mm, 4 mm, Immersion 2 mm Ap. 1,30, Okular II, Kompensationsokulare 2, 4, 6 mit Mikrometer 8, 17, 18. Mit Zeichenapparat nach *Reichert*, Vergrößerung etwa 10—3000. Preis 37400 M.

Mittleres Stativ B II, grobe Einstellung mittels weitgehender Zahn- und Triebbewegung, feine Einstellung durch im Oberteil gelagerte präparatschützende Mikrometerschraube mit seitlichem Antrieb. Runder Objekttisch, dreh- und zentrierbar, von 110 mm Durchmesser. Abbe-Kondensor mit Irisblende und seitlicher Schraube zum raschen Heben und Senken. Revolver für 3 Objektive, Objektive 3, 7a, 18b, homogene Immersion $^1/_{12}$ num. Ap. 1,30, Okulare II und IV, Vergrößerung etwa 40—1200. Preis 13400 M.

Mittleres Stativ C nach Steinach mit Handhabe im Oberteil, umlegbar bis auf 90°, grobe und feine Einstellung, runder Objekttisch von 105 mm Durchmesser, Abbe-Kondensor mit seitlicher Schraube zum raschen Heben, Senken und Ausschalten, Revolver für 3 Objektive, Objektive 3, 7a, 18b, homogene Immersion $^1/_{12}$ num. Ap. 1,30, Okulare II und IV, Vergrößerung 40—1200, Preis 12000 M. Dasselbe Stativ, jedoch mit dreh- und zentrierbarem Objekttisch 800 M mehr.

Stiassnie. In der medizinischen Fakultät zu Paris und dem Collège de France wird bei den histologischen Kursen das Stativ Nr. VII von *Stiassnie* angewandt. Es ist zum Umlegen eingerichtet und mit Abbeschem Beleuchtungsapparat, Zylinderblenden und Irisblende versehen. Grobe Einstellung des Tubus durch Zahn und Trieb. Ohne Okulare und Objektive beläuft sich dessen Preis auf 385 Fr. Dieses Stativ läßt die Anwendung von Immersionssystemen zu. Viel angewandt wird in Frankreich auch das Microscope grand modèle de l'Institut Pasteur de Paris. In vereinfachter Konstruktion nach Angaben des Prof. Radais, ohne Millimeterteilung am Tubus und an der Mikrometerschraube und mit einiger Vereinfachung in der Handhabung des Beleuchtungsapparates 536 Fr. Die Trockensysteme 2 und 5, die homogene Immersion $^1/_{12}$, Revolver für

3 Objektive, sowie die HUYGHENSschen Okulare I, II, III, ferner die Kompensationsokulare 9 und 12 mit Vergrößerung von 34 bis 1500 würden 693 Fr kosten; die homogene Immersion $^1/_{16}$ an Stelle von $^1/_{12}$ erhöht den Preis um 116 Fr. Apochromate konstruiert *Stiassnie* nicht, wohl aber zu seinen Achromaten Kompensationsokulare 4, 6, 9, 12, 18, die ihrer Bezeichnung entsprechend vergrößern.

F. Koristka. Stativ Ba mit rundem, beweglichem Tisch und seitlicher Mikrometerschraube, in den Einrichtungen den bei *Zeiss* und *Leitz* empfohlenen ähnlich, nur größer. Preis einschl. ABBEschem Beleuchtungsapparat 1005 it. £. Den bei *Zeiss* und *Leitz* empfohlenen Stativen entspricht in der Größe das Stativ Ca mit umlegbarem Oberteil, seitlicher Mikrometerschraube, rundem, zentrierbarem Tisch und vereinfachtem ABBEschem Beleuchtungsapparat nebst Irisblende. Preis 750 it. £. *Koristka* liefert entsprechende Apochromate und Kompensationsokulare wie *Zeiss*. Es werden die trockenen Apochromate 8.0 mm mit 360 it. £, 4,0 mm mit 480 it. £, die homogenen 2.0 mm mit 720 it. £ berechnet, die Kompensationsokulare 4, 6 und 8 mit je 54 it. £. 12 mit 78 it. £ und 18 mit 72 it. £. Bei Ausrüstung mit achromatischen Objektiven und HUYGHENSschen Okularen würden die Trockensysteme 3 und 7* 210 it. £, die homogene Immersion $^1/_{12}$ 390 it. £ betragen. Das Objektiv $^1/_{12}$ gibt mit Okular 5 1320fache Vergrößerung. Die HUYGHENSschen Okulare werden mit 21 it. £ berechnet: 2, 4, 5 wären nötig. Revolver für 3 Objektive 75 it. £.

In England sind viele kontinentale Mikroskope in Gebrauch; solche werden auch in Amerika vornehmlich benutzt[1]). Von den englischen Firmen seien genannt: *Powell & Lealand* in Emsdale, Greenham Road, Muswell Hill, N., und *James Swift & Son*, London W, Tottenham Court Road 81, *W. Watson & Sons*, London W. C. 1, High Hollborn 313, ferner *R. & J. Beck*, 68, Cornhill. London, E. C. 3, von amerikanischen *Bausch & Lomb*, Rochester, New York, die in Frankfurt a. M. eine Niederlassung besitzt. *Powell & Lealand*, Preisliste 1911, liefern ein Apochromat von $^1/_{10}$ Zoll, 1,35 numerischer Apertur, das bei 250 mm Tubuslänge mit dem Kompensationsokular 2 eine Vergrößerung von 2000 gibt. Berechnet wird dieses Objektiv mit 50 £. *James Swift* liefert ein im Katalog 1910 mit „Discovery“ bezeichnetes einfaches Instrument, Stativ Nr. 345, mit den Objektiven $^2/_3$ Zoll N. A. 0,28 und $^1/_6$ Zoll N. A. 0,85, den Okularen II und V mit Irisblende und zweifachem Revolver zu 7 £, 10 sh; Vergr. 60—513. Ferner für Fortgeschrittene das Mikroskop J. M. S. Nr. 379 mit den Objektiven $^2/_3$ Zoll N. A. 28 und $^1/_6$ Zoll N. A. 0,85, Ölimmersion $^1/_{12}$ Zoll N. A. 1,30, ABBEschem Kondensor mit Irisblende, dreifachem Revolver und zwei Okularen für 23 £; Vergr. bis 1125. Von *R. & J. Beck* kann man ein British Student's Microscope, Stativ Nr. 54 H, mit Irisblende, einem Okular Nr. I, mit den Objektiven $^2/_3$ Zoll (14 mm) und $^1/_6$ Zoll (4 mm) zum Preise von 4 £, 18 sh, beziehen. Zweckmäßig nimmt man noch Okular II und III für je 5 sh hinzu, ebenfalls einen Revolver für 2 Objektive, je nach Ausführung, zu 9—15 sh.

Manche optischen Werkstätten liefern auf Wunsch die Stative auch vernickelt, wodurch ihr Preis um ein Geringes steigt. Die Vernickelung widersteht besser der häufigen Benutzung als der vielfach übliche rauhe Lack oder die Politur; doch ist die weiße Farbe des Nickels dem

[1]) Da neue Angaben nicht zu erlangen waren, blieben die alten erhalten.

unbenutzten Auge des Beobachters unter Umständen störender als das gewohnte Gelb der Instrumente.

Die besseren Mikroskope werden in Mahagonikästen oder Eichenschränkchen geliefert, die einfacheren Instrumente, um deren Preis möglichst niedrig zu halten, in Erlenholzschränkchen.

Außer den angeführten gibt es noch eine Anzahl anderer Werkstätten, welche gute Instrumente erzeugen. Die Empfehlung einer noch größeren Zahl von Instrumenten hätte die Wahl unter ihnen nur erschwert, weshalb wir eine Einschränkung für nötig hielten. Die gegebenen Zusammenstellungen werden einen jeden, der ein eigenes Mikroskop zu besitzen wünscht, in den Stand setzen, je nach dem Maß seiner Wünsche und der Ausgabe, die er machen will, eine Wahl zu treffen. Da aber die größeren optischen Werkstätten unter normalen Verhältnissen fast alljährlich einen neuen Katalog herausgeben, Preisänderungen gerade jetzt an der Tagesordnung sind, ältere optische Apparate öfters geändert werden, auch neue hinzukommen, so wird jeder gut tun, sich vor allem von der Firma, bei der er die Bestellung machen will, den neuesten Katalog senden zu lassen und sich über den gerade herrschenden Teuerungszuschlag zu orientieren. Die hier vorgeschlagenen Kombinationen sind nach den letzt erschienenen bzw. gesandten Katalogen der betreffenden Werkstätten zusammengestellt. Die optischen Werkstätten pflegen die einmal getroffenen Bezeichnungen für Stative, Objektive und Okulare festzuhalten; unter allen Umständen würde aber, falls dem Besteller ein Katalog der Werkstätte nicht vorliegt, die Nennung der auf den Seiten 2 bis 6 angeführten Jahreszahlen bzw. Katalognummern genügen, um der Bestellung die richtige Ausführung zu sichern.

Zur allgemeinen Orientierung mögen hier noch einige Erörterungen über die Leistungsfähigkeit der einzelnen Instrumente und Apparate folgen. Wir beschränken uns dabei auf rein praktische Angaben, deren theoretische Begründung in einem der zahlreichen Werke über das Mikroskop zu vergleichen wäre[1]).

Die in der ersten Reihe auf den Seiten 2 und 3 empfohlenen Mikroskope reichen für die Lösung der Aufgaben aus, die in diesem Buche mit großen Lettern gedruckt worden sind. Für die im Kleindruck wiedergegebenen Aufgaben sind vielfach die Instrumente der zweiten Reihe, Seite 4 bis 6, erforderlich.

S t a t i v e. Die größeren Stative der zweiten Reihe bieten den kleineren Stativen der ersten Reihe gegenüber mannigfache Vorteile. Ihr größerer Objekttisch erleichtert die Arbeit. Ist ein drehbarer Objekttisch vorhanden, so gestattet das, die Untersuchungsobjekte schnell in die für die Beobachtung günstigste Lage zu bringen, und erleichtert den Vergleich aufeinanderfolgender Schnitte oder Entwicklungszustände, sowie die Orientierung der zu zeichnenden Ob-

---

[1]) Für Botaniker kommen hauptsächlich in Betracht: C. NAEGELI und S. SCHWENDENER, Das Mikroskop, 2. Aufl., 1877. L. DIPPEL, Grundzüge der allgemeinen Mikroskopie, 1885. W. BEHRENS, Hilfsbuch zur Ausführung mikroskopischer Untersuchungen, 1883. W. BEHRENS, A. KOSSEL und P. SCHIEFFERDECKER. Das Mikroskop und die Methoden der mikroskopischen Untersuchung, 1889. A. ZIMMERMANN, Das Mikroskop. Ein Leitfaden der wissenschaftl. Mikroskopie, 1895. H. HAGER-C. MEZ, Das Mikroskop und seine Anwendung, 12. Aufl., 1920.

jekte. — Die größeren Stative allein lassen die Anbringung des großen Abbeschen Beleuchtungsapparates zu, der die von dem Spiegel des Mikroskops ausgehenden Lichtstrahlen in einem Strahlenkegel von sehr großer Apertur sammelt und im Objekt vereinigt. — Sehr erwünscht ist die bei den größeren Stativen am Auszugrohr des Tubus angebrachte Teilung, welche die genaue Einstellung der Tubuslänge auf das von dem Optiker verlangte Maß gestattet. Wenn diese Teilung fehlt, pflegt die Stelle, welche dem richtigen Längenmaße entspricht, mit einem Strich am Auszugrohr bezeichnet zu sein. Wo eine solche Bezeichnung fehlt, ist festzuhalten, daß die für den Tubus vorgeschriebene Länge sich nur auf den Tubus bezieht, eine mit einem gewöhnlichen Maßstab vorgenommene Messung sich nur von der Ansatzfläche des Objektivgewindes bis zum oberen Tubusrand zu erstrecken hat. Ist die Mikrometerschraube, durch welche die feine Einstellung vollzogen wird, mit einem Teilkreis versehen, so kann die Hebung oder Senkung des Tubus in der Richtung der optischen Achse sehr genau gemessen werden. Bei Instrumenten von *Zeiss* lassen sich so Bewegungen von 0,002 mm unmittelbar ablesen. Man kann in solcher Weise auch Dickenmessungen innerhalb des Präparates vornehmen, indem man zuerst auf die obere, dann auf die untere Fläche des zu messenden Gegenstandes einstellt und jedesmal die Stellung des Index an der Teilung des Kopfes abliest. Dabei ist darauf zu achten, daß beide Einstellungen am Gegenstand durch eine gleichsinnige Drehung der Mikrometerschraube vollzogen werden. Weiter ist aber zu berücksichtigen, daß die Teilungen am Schraubenkopf nur für die Dicke von Luftschichten unmittelbar gültige Werte angeben. Bei Schichten anderer Substanzen gibt ihr Brechungsexponent den Reduktionsfaktor für die Berechnung der wirklichen Dicke aus dem gefundenen Werte ab. — Sehr angenehm ist das bei den meisten größeren Stativen mögliche Umlegen ihres oberen Teiles. Man neigt den Oberteil so weit, als dies für die Beobachtung am bequemsten erscheint, und befestigt ihn in seiner Lage durch Klemmhebel mit Schraube. Die lang anhaltende Beobachtung ist an einem so geneigten Mikroskop weniger ermüdend, als an einem senkrecht stehenden. Die Mikrometerschraube pflegt an dem Mikroskop entweder oben oder tiefer seitlich angebracht zu sein.

Die meisten Optiker liefern ihre Stative auf Verlangen auch mit englischem Fuß. Das Stativ ruht alsdann nicht auf einem Hufeisen, sondern auf drei Füßen.

Als Objekttische für die größeren Mikroskope dienen in der Regel Platten aus schwarzem, mattem Hartgummi, die einer Messingunterlage fest aufgeschraubt sind. Hat man den Wunsch, die dunkle Platte gegen eine hellere, so z. B. mattweiße Milchglasplatte auszuwechseln, was namentlich bei öfterer Untersuchung schwachgefärbter Objekte, deren Konturen sich auf dem dunklen Untergrund kaum abheben, der Fall sein dürfte, so kann man eine entsprechende Vorrichtung, wenigstens bei den *Leitz*schen Mikroskopen, auch nachträglich ohne große Kosten anbringen lassen[1]). — Die Objekttische der kleineren Stative sind meist nicht beweglich und von geringer Größe. Man kann aber bei diesen den Vorteil der Beweglichkeit und

[1]) H. L. Heusner, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXV, 1908, S. 62.

größeren Fläche dadurch erreichen, daß man eine dafür eingerichtete Glasplatte von 2—3 mm Dicke und 9×13 cm Fläche an den matten, seitlichen Teilen der Unterseite mit Wasser oder noch besser mit einem Gemisch von Wasser und Glyzerin befeuchtet und vorsichtig auf den festen Mikroskoptisch schiebt. Durch die Adhäsion bleibt die Scheibe selbst bei geneigtem Stativoberteil fest haften, kann mit den Händen leicht verschoben werden und bleibt in jeder Lage, in die man sie gebracht hat[1]).

Hauchschirme. Um das Beschlagen der dem Atem des Beobachters ausgesetzten Mikroskopteile und die damit verbundenen schädlichen Einflüsse auf diese (Oxydation u. ä.) zu verhüten, bringt man zweckmäßig einen Schutzschirm am oberen, das Okular enthaltenden Tubusteil an. Gute Dienste leistet ein Stück weiches Leder, aus dem eine kreisrunde Öffnung vom Durchmesser des Okulars ausgeschnitten wurde und das über den Tubus geschoben wird. Besonders für den angegebenen Zweck bestimmte „Hauchschirme", die an dem Mikroskoptubus ohne weiteres durch eine Klemme befestigt werden können, liefern u. a. *C. Zeiss* und *C. Reichert* zum Preise von 75 M. Bei Bestellungen gebe man an, für welches Stativ der Schirm gewünscht wird.

Objektive und Okulare. Unter Anwendung neuer Glasarten, namentlich von Fluorit, haben nach Angaben von Abbe seit 1884 *C. Zeiss* und später andere Werkstätten neue Objektive hergestellt, die sog. Apochromate. Diese damals nach neuen Konstruktionstypen hergestellten und seitdem noch verbesserten Objektive zeigten eine vollständigere Korrektion der chromatischen und der sphärischen Abweichungen im Bild, als man sie bis dahin erreicht hatte. Zum Gebrauch mit diesen Objektiven wurden auch neue Okulare, die Kompensationsokulare, konstruiert, welche eine annähernde Farblosigkeit und gleichmäßige Bildschärfe im ganzen Sehfeld ermöglichten. Andere optische Werkstätten folgten alsbald in der Herstellung von Apochromaten und Kompensationsokularen nach. Die neuen Glasarten und Konstruktionstypen beeinflußten die Konstruktion der älteren Objektive und ermöglichten auch bei diesen eine vollkommenere Aufhebung der sphärischen und chromatischen Aberration. Die Leistungsfähigkeit dieser achromatischen, mit den Huygensschen Okularen zu benutzenden Objektive wurde dadurch so gesteigert, daß es tatsächlich nur bestimmte Gebiete der mikroskopischen Forschung sind, in denen man auf die Apochromate angewiesen ist. Im besonderen ist auch infolge der neuen Konstruktionsmethoden der freie Objektabstand, d. h. die Entfernung zwischen der oberen Fläche des zu untersuchenden Objekts und der unteren Fläche des Objektivs, im allgemeinen vergrößert worden, was für die bequeme Benutzung der Objektive die größte Bedeutung hat. Die Achromate sind für zwei Farben des Sonnenspektrums achromatisch korrigiert, während dies bei Apochromaten für einen größeren Teil des Spektrums der Fall ist. Dieser hohe Grad von Achromasie läßt sich aber nur durch Anwendung von Flußspat erreichen, was den Preis der Apochromate entsprechend steigert.

[1]) G. Schorr, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXIII, 1906, S. 425. Im übrigen vgl. über bewegliche Objekttische S. 39 ff.

Beim Übertritt aus dem Deckglas in die Luftschicht, welche das Deckglas von der Frontlinse eines Trockensystems trennt, erfahren die Lichtstrahlen eine starke Ablenkung, werden außerdem, soweit ihre Neigung den Grenzwinkel für Glas und Luft überschreitet, total reflektiert. Dadurch gehen sie für das Bild verloren, das demgemäß an Helligkeit einbüßt. Dieser Verlust wird wesentlich vermindert, wenn sich zwischen Deckglas und Frontlinse des Objektivs Wasser, und fast aufgehoben, wenn sich dort eine Flüssigkeit von dem Brechungsexponenten des Glases befindet. Daher lassen die Immersionssysteme, vor allem solche für homogene Immersion, auch eine bedeutend größere numerische Apertur zu. Die numerische Apertur ist das Produkt aus dem Sinus des halben wirksamen Öffnungswinkels mit dem Brechungsindex des Mediums, auf das sich dieser bezieht. Die numerische Apertur eines Objektivs ist maßgebend für alle seine wesentlichen Leistungen. Mit wachsender numerischer Apertur wird die Helligkeit des Bildes größer, das Auflösungsvermögen vollkommener und damit übersteigt die Leistungsfähigkeit der Systeme für homogene Immersion erheblich diejenige der Trockensysteme und nicht unwesentlich auch noch jene der Systeme für Wasserimmersion.

Bei Objektiven für Wasserimmersion wird destilliertes Wasser (Aq. dest.), dessen Brechungsexponent 1,33 ist, als Immersionsflüssigkeit benutzt; bei homogener Immersion eingedicktes Zedernholzöl, das vom Optiker in der nötigen Brechungskraft, meist 1,515, geliefert wird. Auch Monobromnaphthalin, mit dem hohen Brechungsindex 1,66, ist in einzelnen Fällen für bestimmte, mit besonders hoher Apertur konstruierte Objektive, verwandt worden. Da aber dann, damit der große Öffnungswinkel wirklich ausgenutzt wird, auch das Medium, in welchem das Objekt sich befindet, entsprechend stark lichtbrechend (etwa Monobromnaphthalin, Quecksilberjodid oder Realgar) sein muß, ferner geschliffene Deckgläschen aus einer bestimmten schweren Flintglasart zur Untersuchung gehören, so können solche Monobromnaphthalin-Systeme nicht allgemeinere Anwendung finden.

Die Wasserimmersionen bieten den Vorteil, daß das Wasser leicht von dem Deckglas entfernt werden kann und den Wechsel der Beobachtung mit Trockensystemen ohne weiteres zuläßt. Allerdings verdunstet es relativ schnell, wobei man sich aber, wenn man keine Ölimmersion zur Verfügung hat, bei längerdauernder Untersuchung bestimmter Stellen im Präparat dadurch helfen kann, daß man dem Deckgläschen mittels Kanadabalsams einen 1 cm hohen Glasring von genügend großem Durchmesser aufkittet. Die so gebildete Glaskammer wird nun mit Wasser beschickt, in welches das Immersionssystem hineintaucht[1]). Im übrigen ist es nicht schwer, bei richtigem Verfahren auch das Zedernholzöl selbst von frei aufliegenden Deckgläsern zu entfernen. Man verwendet hierzu einen weichen, in Benzin oder besser noch in Chloroform getauchten Pinsel.

Da das Zedernholzöl in den mit Stopfen verschlossenen Gefäßen, wenn man sie dauernd benutzt, alsbald am Stopfen emporzusteigen und sich über die Außenseite der Gefäße zu verbreiten pflegt, so empfiehlt es sich, mit einer Glaskappe verschlossene Fläschchen zu gebrauchen. Von der Mitte der Kappe geht abwärts ein in einer

[1]) Vgl. H. Miehe, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. LXII, 1908, S. 148.

kleinen Kugel endender Glasstift, mit welchem man den Immersionstropfen hervorholt. Von *Zeiss* (Mikro 352) wird neuerdings zum Preise von 60 M noch ein Fläschchen für Immersionsöl, das einen besonders sparsamen Verbrauch des Öls gewährleistet und zugleich die zum Reinigen der Objektive und Präparate nötige Flüssigkeit (Benzin, Xylol o. ä.) enthält, geliefert (Fig. 1). In einem äußeren, aus farblosem Glas bestehenden Behälter, welcher die zum Reinigen bestimmte Flüssigkeit aufnimmt, ist ein Hohlkörper aus braunem Glas eingeschoben, der oben unter einem offenen Halsteil bauchig erweitert, in der Mitte konisch verjüngt ist und nach dem unteren, das Immersionsöl enthaltenden Teil zylindrisch ausläuft. Das Ganze ist von einer Metallkappe bedeckt, von der aus in den braunen Hohlkörper ein schwach gekrümmter, federnder Stahldraht mit einem darüber geschobenen engen, dickwandigen, unten zugeschmolzenen Glasröhrchen hineinragt. Dieses taucht in das Öl verschieden tief ein, je nachdem es auf dem Draht weniger oder mehr herabgeschoben worden ist. Die Reinigungsflüssigkeit entnimmt man, indem man den braunen in sie eintauchenden Hohlkörper, wie einen Stopfen mit angeschmolzenem Glasstab benutzt. — Mehr oder weniger kompliziert gebaute Fläschchen für Immersionsöl liefern auch die meisten anderen optischen Firmen. So kann man von *Leitz* ein einfaches mit Hornstäbchen (Katalog 46 D für mikroskopische Nebenapparate Nr. 197) zu 30 M, von *Seibert* ein komplizierteres, nach der Angabe von A. SCHUBERG[1]) hergestelltes (Katalog 34, 1909, Nr. 85) zum Preise von 80 M inkl. Öl beziehen.

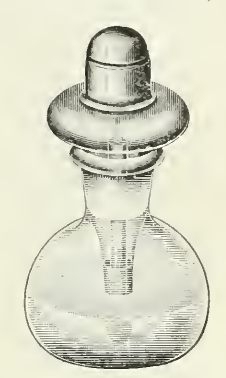


Fig. 1. Fläschchen für Immersionsöl und die zugehörige Reinigungsflüssigkeit von *Zeiss*. Ca. ½ nat. Größe.

Alle stark vergrößernden Objektive lassen, auch in der neueren Konstruktion, nur die Anwendung sehr dünner Deckgläser zu. Die stärkeren Trockensysteme und Wasserimmersionssysteme sind andererseits gegen die Deckglasdicke sehr empfindlich und daher mit K o r r e k t i o n s f a s s u n g für verschiedene Deckglasdicken versehen. Meist können solche Objektive sowohl ohne, als auch mit Korrektionsfassung bezogen werden; manche Optiker, wie z. B. *Zeiss*, *Winkel*, liefern bestimmte Objektive nur mit Korrektionsfassung. Soweit die optischen Werkstätten solche Objektive auch ohne Korrektionsfassung abgeben, haben wir den Preis des Objektivs stets ohne Korrektionsfassung angeführt; wo ein Objektiv nur mit Korrektionsfassung geliefert wird, ist dies bei Angabe des Preises hervorgehoben worden. Im allgemeinen wird der Preis des Objektivs durch die Korrektionsfassung um 800 M erhöht. Wo keine Korrektionsfassung vorliegt, ist das Objektiv auf eine bestimmte mittlere, von dem Optiker näher bezeichnete Deckglasdicke korrigiert. Diese Dicke beträgt bei *Zeiss* 0,17 mm, von *Leitz* wird sie auf 0,16 bis 0,18 mm, von *W. & H. Seibert* mit 0,15 bis 0,18 mm, von *Hartnack* und *Reichert* mit 0,17 mm, von *Winkel* mit 0,16 bis 0,18 mm, von *Koristka* mit 0,16 mm angegeben. Bei den stärkeren Systemen von *Zeiss* ist die Deckglasdicke, für welche die vollkommenste Korrektion besteht, in der

[1]) Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XX, 1903, S. 17.

Regel 0.17 mm, seitlich an den Linsenfassungen angegeben. — Es ist leicht, sich jetzt Deckgläser bestimmter Dicke käuflich zu beschaffen und so die Korrektionsfassung entbehrlich zu machen. Oder man erwirbt einen Deckglastaster, wie er von fast allen optischen Werkstätten, in einfacherem oder komplizierterem Bau, im Preise von 1200—1500 M geliefert wird. Durch einfache, ohne weiteres verständliche Einrichtung lassen solche Deckglastaster die Bestimmung der Deckglasdicke zu. Man kann übrigens die Deckglasdicke auch an einem gewöhnlichen Maßstab messen. Man sortiert zu diesem Zweck die Deckgläser, die man einzeln auf eine glatte Tischplatte fallen läßt, nach ihrem Klang. Die Deckgläser von gleicher Stärke haben denselben Klang. Man legt eine größere Zahl von Deckgläsern gleichen Klanges aufeinander, drückt sie vorsichtig mit den Fingern zusammen und hält sie gegen einen Maßstab. Angenommen, 10 solche Deckgläser sind zusammen 2 mm dick, so beträgt die Dicke des einzelnen 0,2 mm. Wer an seinem Stativ über eine mit Teilkreis versehene Mikrometerschraube für feine Einstellung verfügt, wird auch diese benutzen können, um die Dicke eines Deckglases zu bestimmen. Er stellt dann nacheinander, bei gleichsinniger Drehung der Mikrometerschraube, auf die obere und untere Deckglasfläche ein und liest jedesmal die Stellung des Index an der Teilung des Kopfes ab. Die Intervalle der Teilungen geben aber, wie schon betont wurde, nur eine entsprechende Bewegung des Tubus in der Luft an. Um richtige Werte für die Deckglasdicke zu erhalten, ist nun auf Anraten der *Zeiss*schen Werkstätte so zu verfahren, daß man mit einem stärkeren Trockensystem und stärkeren Okular, etwa dem Okular 7x oder 10x von *Zeiss*, ein Deckglas von genau bekannter Dicke mißt. Die am Schraubenkopf abgelesene scheinbare Dicke gibt dann beim Vergleich mit der bekannten wahren Deckglasdicke ein für allemal den Reduktionsfaktor an, der bei Messungen von Deckgläsern unbekannter Dicke mit demselben Objektiv und demselben Okular unter genau gleicher Beleuchtung in Geltung tritt. Auf diese Weise ist es dann möglich, auch die Deckglasdicke an Dauerpräparaten zu bestimmen. — Hat man in dieser oder jener Weise die Deckglasdicke ermittelt, so stellt man die Korrektionsfassung des Objektivs auf sie ein. Es geschieht das durch Drehung des mit einer Skala versehenen Korrektionsrings mit Einstellung auf den über der Skala an der Fassung angebrachten unbeweglichen Punkt oder Strich. Die neuen Korrektionsfassungen (Fig. 2) sind so eingerichtet, daß bei Drehung des Korrektionsrings die Entfernung der beiden oberen Doppellinsen des Objektivs gegen die beiden unteren, mit der Fassung fest verbundenen, eine andere wird. Besonders sind es die Trockensysteme mit großem Öffnungswinkel, die sich sehr empfindlich gegen wechselnde Deckglasdicke zeigen. Ist die Deckglasdicke unbekannt, und hat man sie noch nicht ermittelt, so gilt es, den Korrektionsring während der Beobachtung unter steter Nachstellung der Mikrometerschraube zu drehen und ihn in jener Lage zu lassen, bei welcher das Bild des Objektes besonders scharf sich zeichnet. — Die Objektive für homogene Immersion werden nur in fester Fassung hergestellt, weil deren Leistung von der Deckglasdicke innerhalb ziemlich weiter Grenzen unabhängig ist. Denn es stellen Deckglas, das als Immer-

sionsflüssigkeit benutzte Zedernholzöl und die Frontlinse des Objektivs eine Schicht von nahezu gleichem Lichtbrechungsvermögen vor, so daß die vom Objekt austretenden Strahlen auf ihrem Wege zum Objektiv keine Ablenkung erfahren. Hingegen sind Objektive für homogene Immersion sehr empfindlich gegen wechselnde Tubuslänge, bei der somit genau die vom Optiker angegebenen Maße (vgl. S. 3) eingehalten werden müssen. Andererseits lassen sich ungewohnt starke Abweichungen in der Deckglasdicke leicht durch eine geringe Verlängerung des Tubus bei zu dünnem, durch eine geringe Verkürzung des Tubus bei zu dickem Deckglase ausgleichen. Bei Anwendung von Revolvern oder Schlittenwechslern muß der Tubus um die Höhe des eingeschalteten Apparates verkürzt werden, ausgenommen bei den neueren *Zeiss*schen Stativen, bei denen die Bezifferung des Auszugrohres die Tubuslänge einschließlich Revolver oder Schlittenwechsler, die nunmehr gleiche Höhe haben, angibt. Wird das Stativ ohne Wechsler geliefert, so wird als Ersatz ein Ring von gleicher Höhe (15 mm), am unteren Tubusende angeschraubt, beigegeben.

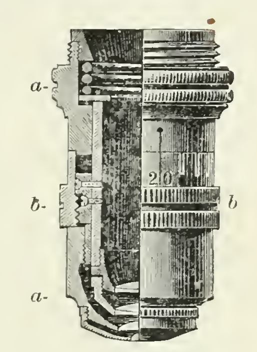


Fig. 2. Objektiv mit Korrektionsfassung von *Zeiss*. Durch den Korrektionsring *bb* wird die Entfernung zwischen den beiden oberen Doppellinsen und den beiden mit der Fassung *aa* festverbundenen unteren Linsen variiert. Nat. Größe.

Vor den anderen Objektiven zeichnen sich die Apochromate dadurch aus, daß in ihnen die Vereinigung von drei verschiedenen Farben des Spektrums in einem Punkte der Achse erreicht und damit das sog. sekundäre Spektrum der achromatischen Systeme aufgehoben wurde, und daß die sphärische Aberration in ihnen für zwei verschiedene Farben des Spektrums, statt wie früher nur für eine, die dem Auge am hellsten erscheinende Farbe, korrigiert ist. Von praktischer Bedeutung ist vor allem die vermehrte Lichtkonzentration dieser Objektive im Bilde und die Kraft ihrer Wirkung. Die starke numerische Apertur und der relativ große Objektabstand bedingen freilich, daß auch bei diesen Objektiven die Bildfläche etwas gewölbt ist, und somit die Mitte des Bildes und der Rand nicht gleichzeitig scharf sich zeichnen, sondern verschiedene Einstellung verlangen. Dieser Mangel ist von *Leitz* durch seine neuen periplanatischen Okulare für die schwächeren Apochromate behoben worden. — Infolge ihrer starken Lichtkonzentration gestatten die Apochromate den Gebrauch sehr starker Okulare; es läßt sich daher bei entsprechender Auswahl von Okularen mit einer geringeren Anzahl von Apochromaten auskommen. Bei Anwendung starker Okulare werden zugleich bedeutende Vergrößerungen mit relativ großem Objektabstand erzielt. Es ist nicht ratsam, für den dauernden Gebrauch Apochromate mit der höchst erreichten numerischen Apertur von 1,40 zu wählen; denn sie haben einen kürzeren Fokalabstand und verlangen außerdem, weil die überhalbkugelige Frontlinse nur am äußersten Rande gefaßt ist, eine sehr vorsichtige Behandlung. Besonders gilt dies von dem Apochromat 90 (2 mm), weniger von dem Apochromat 60 (3 mm).

Da auch die Apochromate wegen der chromatischen Differenz der Vergrößerung, d. h. der verschiedenen Größe der Bilder in den verschiedenen Farben des Spektrums, Farbenfehler in den außeraxialen Teilen des Sehfeldes zeigen, so galt es, diese Fehler durch die Okulare zu korrigieren. Das erreichte man durch die Kompensationsokulare, welche so gebaut sind, daß sie den entgegengesetzten Fehler wie die Apochromate aufweisen und diesen daher ausgleichen. Auch die periplanatischen Okulare, die *Leitz* liefert, weisen dieselben Vorteile auf; die Gesichtsfelder sind bei ihnen jedoch wesentlich größer als bei den Kompensationsokularen. — Die Eigenvergrößerung der Apochromate nimmt von System zu System in einfachem Verhältnis zu. Die Kompensationsokulare sind mit Nummern bezeichnet, die ihre Okularvergrößerung angeben. Man gewinnt somit die jedesmalige Gesamtvergrößerung, wenn man die Eigenvergrößerung des Objektivs mit jener des Okulars multiplizirt. Das schwächste Okular mit der Eigenvergrößerung 2 soll als Sucherokular dienen, d. h. das Auffinden bestimmter Stellen im Präparat erleichtern. Da der sog. Augenpunkt, d. h. die Stelle, bis zu welcher das Auge bei der Beobachtung dem Okular zu nähern ist, auch bei den stärksten Kompensationsokularen verhältnismäßig hoch über der oberen Linsenfläche liegt, der Durchmesser dieser Linse zudem reichlich groß ist, so läßt sich auch mit solchen Okularen noch bequem arbeiten. Hingegen wird das anhaltende Beobachten mit starken HUYGHENSschen Okularen älterer Konstruktion wegen der großen Nähe des Augenpunktes und des geringen Durchmessers der Linse, welche jede Bewegung des Kopfes ausschließt, sehr anstrengend. Bei den neueren Konstruktionen ist dieser Übelstand behoben. Auch bei den gewöhnlichen stärkeren achromatischen Objektiven lassen sich die Kompensationsokulare mit Vorteil benutzen. — Neuerdings hat die Werkstätte von *C. Zeiss* für ihre sämtlichen Objektive und Okulare eine neue Art der Bezeichnung eingeführt, indem diese mit Zahlen bezeichnet worden sind, deren Produkt unmittelbar die Vergrößerung bei 160 mm Tubuslänge für 250 mm Sehweite liefert. Diejenige Zahl, welche auf dem Objektiv steht, gibt die Vergrößerung des vom Objektiv allein entworfenen reellen Zwischenbildes an, die auf dem Okular stehende die Lupenvergrößerung, die das Zwischenbild durch das Okular erfährt.

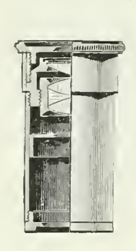


Fig. 3. Kompensationsokular, zur Hälfte im Längsschnitt. 1/2 natürl. Größe.

Auch wäre noch das Spektralokular (Mikrospektroskop) zu nennen, welches besonders zur Beobachtung der Absorptionsspektren mikroskopischer Objekte dient und auch zur spektroskopischen Untersuchung von größeren Objekten, Flüssigkeitsschichten usw. verwandt werden kann. Es ist von *Zeiss* (Nr. 12 81 30) zum Preise von 6920 M zu beziehen.

Außerdem fertigt die Firma *Zeiss* ein stereoskopisches Okular (Nr. 12 85 00) an, welches die binokulare Beobachtung gestattet; es läßt sich nur mit achromatischen Objektiven verwenden. Das neue *Zeiss*sche stereoskopische Okular „Bitumi“ kann mit achromatischen und apochromatischen Objektiven benutzt werden. Bei Apochromaten

erhält es ein Paar Kompensationsokulare, bei achromatischen Objektiven ein Paar HUYGHENSsche Okulare. Das Bitumi wird mit einem Zwischenring in den Außentubus eingeschraubt, nachdem die den Okularstutzen tragende Schiebhülse herausgeschraubt ist. Bei stärkeren Vergrößerungen wird in den Diaphragmenträger eine Zweilochblende eingesetzt. *Leitz* fertigt einen binokularen Stereo-Tubusaufsatz an; mit ihm läßt sich die gleiche Wirkung erzielen. Bei *Seibert* findet sich ein stereoskopisches Doppelokular (Nr. 79 des Katalogs Nr. 39) zum Preise von 4200 M angegeben.

W e c h s e l d e r O b j e k t i v e. Allgemein werden die Objektive an ihren Trichtern mit englischem Tubusgewinde (society-screw) versehen, so daß Objektive der einen Werkstatt an die Stative der anderen angeschraubt und ausgewechselt werden können. — Ein besonders schnelles und bequemes Wechseln der Objektive ist durch bestimmte Revolver- bzw. Schlitten-Einrichtungen ermöglicht. Die für zwei (vgl. Fig. 56), drei oder vier Objektive konstruierten R e v o l v e r (vgl. Fig. 58), die an den Tubus angeschraubt und mit den entsprechenden Objektiven versehen werden, gestatten durch Drehung einen raschen Wechsel dieser Objektive. Die richtige Stellung eines Objektivs wird durch eine in eine Nute einschnappende Feder angezeigt. Wichtig sind die von den meisten Optikern am Revolver angebrachten Schutzdeckel, welche von den unbenutzten Objektiven den Staub abhalten. Es ist erwünscht, daß jedes Objektiv beim Wechseln gleich annähernd richtige Einstellung und Zentrierung zeigt. Es sollte zum mindesten nur eine geringe Nachhilfe mit der Mikrometerschraube für die richtige Einstellung nötig sein. Die Objektive sind dazu besonders abzugleichen; andererseits muß der Revolver gewissen Ansprüchen in seiner Bauart genügen. Vollkommener als der Revolver erreichen dieses Ziel die S c h l i t t e n o b j e k t i v w e c h s l e r (Fig. 59). Diese verlangen ein Tubusschlittenstück, das an den Tubus angeschraubt wird (in Fig. 59 oben). Jedes Objektiv wird seinerseits an ein Objektivschlittenstück angeschraubt. Diese Objektivschlittenstücke führt man in das Tubusschlittenstück ein (Fig. 59 unten) und wechselt sie nach Wunsch rasch aus. Die Ebene der Schlittenführung ist gegen die Horizontale etwas geneigt und zwar so, daß das ausrückende Objektiv sich vom Präparat entfernt, das einrückende sich ihm nähert. Das Tubusschlittenstück sowohl, wie jedes Objektivschlittenstück, werden von der *Zeiss*schen Werkstätte mit 320 M berechnet. Besondere Behälter für drei Objektivschlittenstücke mit Objektiven zu 200 M, für sechs zu 900 M.

B e l e u c h t u n g. Die Beobachtungen am Mikroskop werden fast ausschließlich bei durchfallendem Lichte ausgeführt. Bei den kleineren Stativen begnügt man sich mit dem vom Spiegel ausgehenden Lichtkegel und benutzt den Planspiegel bei schwachen, den Hohlspiegel bei stärkeren Vergrößerungen. Die an der Unterseite des Objekttisches angebrachten Blenden dienen dazu, einen Teil des Lichtkegels abzublenden. Ist dort eine drehbare Scheibe angebracht, so stellt man nach Bedarf eine ihrer weiteren oder engeren Öffnungen in die optische Achse ein; ist ein Blendenträger vorhanden, so versieht man ihn mit einem entsprechenden Diaphragma. — Die verschiedenen Beleuchtungsapparate, die man zwischen Spiegel und Objekttisch ein-

schaltet, um für stärkere Vergrößerung die Beleuchtung zu steigern, stimmen darin überein, daß sie einen sog. Kondensor von kurzem Fokus enthalten, welcher die vom Spiegel nach dem Objekt reflektierten, ziemlich spitzen Strahlenbüschel in solche von stärkerer Konvergenz (Apertur) verwandelt und so dem Objekt eine vielseitigere Beleuchtung verschafft, als sie der Spiegel allein geben könnte. Nur annähernd lösen diese Aufgabe die kleineren Beleuchtungsapparate, die sich an den kleinen Stativen anbringen lassen. Vollkommene Leistungen weist erst der nur an größeren Stativen verwendbare Abbesche Beleuchtungsapparat auf. Da die Anwendung des vollen Beleuchtungskegels solcher Beleuchtungsapparate nur für die Beobachtung sehr stark gefärbter, kleinster Objekte oder Strukturen in Betracht kommt, so muß der Beleuchtungskegel in allen anderen Fällen entsprechend reduziert werden, was in vorzüglichster Weise durch die Irisblende erfolgt. Die Öffnung dieser Blende läßt sich nach Bedarf verengen oder erweitern und so die Apertur der Beleuchtungsbüschel bei ungeänderter Stellung des Kondensors und Spiegels variieren. Auf diese Weise ist sowohl ein schneller Übergang von „konvergentem zum parallelen Licht“ als auch die langsamere Auswahl der für ein gegebenes Präparat vorteilhaftesten Größe der Beleuchtungsapertur möglich, ohne daß der Beobachter den Blick vom Präparatbilde wegzuwenden hat[1]). Ein an der Irisblende angebrachtes Zahn- und Triebwerk gestattet es, ihre Öffnung in eine exzentrische Lage zu versetzen und so schiefe Beleuchtung herzustellen. Da der Blendenträger drehbar ist, so kann das schiefe Licht in allen Richtungen der Achse gegeben werden. Endlich läßt sich eine sternförmige Blende in den Blendenträger einsetzen, durch welche die zentralen Strahlen des Beleuchtungsapparates abgeblendet werden, nur die Randstrahlen zur Wirkung kommen und man eine sog. Dunkelfeldbeleuchtung[2]) erzielt. — Der Abbesche Beleuchtungsapparat von *Zeiss* (Fig. 4) ist mit Zahn- und Triebbewegung versehen und kann durch Drehen der Schraube *s* in der optischen Achse auf- oder abwärts bewegt werden. Das Kondensorsystem wird als zweilinsiges mit 1,2 Apertur (*Zeiss*scher Katalog von 1922, Mikro 368, Nr. 11 41 20, Preis 720 M) und als dreilinsiges mit 1,4 Apertur (Nr. 11 41 30, Preis 920 M), schließlich als aplanatisches (Nr. 11 41 40 zum Preise von 2000 M) mit 1,4 Apertur angefertigt. Den Stativen wird wunschgemäß der ausgewählte Kondensor beigefügt. Das Kondensorsystem steckt in einer federnden Hülse und läßt sich, nachdem die Irisblende zur Seite geschoben

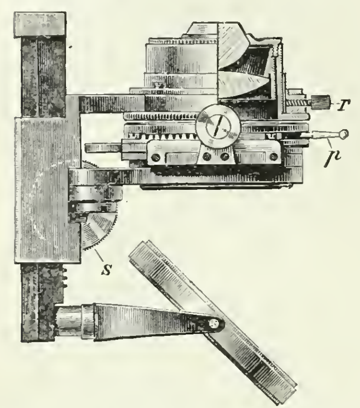


Fig. 4. Abbescher Beleuchtungsapparat von *Zeiss* mit gewöhnl. Kondensor Nr. 11 41 20. *r* Schraube zum Festklemmen des Kondensors an der Schiebhülse; *p* Knöpfchen zum Verengern oder Erweitern der Irisblende; *s* Kopf der Schraube für die Zahn- und Triebbewegung. Ca. ½ natürl. Größe.

[1]) S. Czapski, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XI, 1894, S. 433.

[2]) Weitere Angaben hierzu S. 18 ff.

wurde, aus dieser herausziehen. Man kann es dann durch eine gewöhnliche Zylinderblende, für die drei Einsätze vorhanden sind (*Zeiss*scher Katalog Mikro 368, Nr. 11 41 00) und die 160 M kostet, ersetzen. Auch ein herausklappbarer Kondensor mit Irisblende, den die *Zeiss*sche Werkstätte mit 1,2 numerischer Apertur (Nr. 11 41 25) für 1720 M, mit 1,4 numerischer Apertur (Nr. 11 41 35) für 1920 M liefert, kann in die Schiebhülse des Beleuchtungsapparates nach Entfernung seines Kondensorsystems eingeschoben werden. Man klappt diesen Kondensor nach unten heraus und schiebt ihn links zur Seite, wenn man die Irisblende allein benutzen will. Diese läßt sich dann bis dicht unter das Objekt bewegen. — Die *Zeiss*sche Werkstätte gibt den Abbeschen Beleuchtungsapparat nicht ohne Stativ ab. — Das vielbenutzte Stativ BC von *Zeiss* kostet, wenn der Kondensor zum Ausklappen eingerichtet ist, 560 M mehr (34160 M). — *Leitz* (Katalog für mikrosk. Nebenapparate 46 D) liefert einen Abbeschen Beleuchtungsapparat (b) mit Kondensor, der durch eine Zylinderblende ausgewechselt werden kann, Blendenträger mit Iris, Plan- und Hohlspiegel für 2400 M. Für die größten Stative von *Leitz* wird ein ebensolcher Beleuchtungsapparat (a) empfohlen, an dem durch Druck auf einen Knopf der Kondensor sich befreien und zur Seite schlagen läßt, worauf eine Iriszylinderblende in Wirksamkeit tritt. Preis 3000 M. — *C. Reichert* liefert einen entsprechenden Abbeschen Beleuchtungsapparat für seine größeren Stative, der aus einem Kondensorsystem von 1,2 oder 1,4 mm Apertur, einem Diaphragmenträger mit Irisblende, der auch höher und tiefer gestellt werden kann, und einer einfachen Zylinderblende mit drei Diaphragmen, die an Stelle des Kondensors sich einsetzen lassen, besteht. Der Preis beträgt 2400 M. Die Wahl des Kondensorsystems von 1,2 oder von 1,4 mm Apertur erhöht den Preis um weniges. — Für Stativ V wird von *Zeiss* ein vereinfachter Beleuchtungsapparat Nr. 11 43 20 mit Kondensor num. Apert. 1,2 und Irisblende für 1160 M empfohlen.

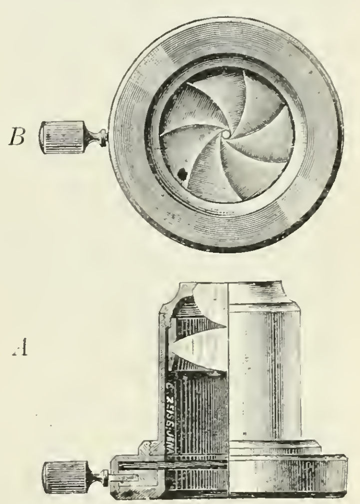


Fig. 5. Beleuchtungssystem Nr. 11 44 10 von *Zeiss*. *A* Seitenansicht, halb aufgeschnitten, *B* die Irisblende für sich, von unten gesehen. Nat. Größe.

In manchen Fällen kann in Ermangelung eines Beleuchtungsapparates, sofern es sich nur um die Möglichkeit sehr schiefer Beleuchtung handelt, auch eine sehr einfache Vorrichtung gute Dienste leisten[1]). Man kittet mittels eines Tropfens Glyzerin oder Öl eine plankonvexe, nahezu halbkugelige Linse von 6—9 mm Radius, soweit der Durchmesser der Objekttisch-Öffnung diese Größe erlaubt, an die Unterfläche des Objektträgers. Sie bleibt durch Adhäsion an ihm hängen und kann durch ein lose aufgestecktes Messingringchen, dessen äußerer Durchmesser der Tischöffnung entspricht, genügend zentriert

[1]) E. Abbe, Sitzber. d. Jen. Gesellsch. f. Med. u. Naturw., 1879, S. 13.

werden, ohne die freie Verschiebung des Präparats zu hindern. Der Hohlspiegel des Mikroskops, nur mäßig weit aus der Achse entfernt, liefert jetzt Strahlenkegel von jeder gewünschten Schiefe. Bis zu einem gewissen Grade läßt sich endlich die Linse durch einen Wasser- oder Glyzerintropfen ersetzen, den man an der Unterseite des Objektträgers anbringt.

Dunkelfeldbeleuchtung und Ultramikroskopie. Um sehr kleine Objekte, die außerhalb der Grenze des mit den bisher angegebenen Mitteln erreichbaren mikroskopischen Abbildungsvermögens liegen, für das Auge sichtbar zu machen, sind in neuerer Zeit eine Anzahl Einrichtungen für Dunkelfeldbeleuchtung bzw. Ultramikroskopie konstruiert worden, die von Tag zu Tag weitere Vervollkommnung erfahren[1]). Die Sichtbarmachung der „ultramikroskopischen" Objekte (Ultramikronen) wird durch Kontrastwirkung, nicht durch Anwendung hoher Vergrößerungen, erreicht. Von den beleuchtenden Strahlen ist dabei keiner im Okulargesichtsfeld des Mikroskops direkt wirksam; die Abbildung erfolgt lediglich durch Strahlen, welche im Objekt abgebeugt werden, wobei dieses hell auf dunklem Grunde erscheint. Zur Herstellung einer Dunkelfeldbeleuchtung werden die Strahlen entweder im Kondensor oder im Objektiv abgeblendet oder es wird eine Einrichtung getroffen, mittels welcher das Objekt Seitenbeleuchtung erhält.

Während die komplizierten Ultramikroskope für unsere Zwecke kaum in Betracht kommen, sind die Einrichtungen für Dunkelfeldbeleuchtung mittels Abblendung im Kondensor in vielen Fällen mit Vorteil zu verwenden. Auf einfachste Weise geschieht die Erzeugung einer solchen Dunkelfeldbeleuchtung durch Einführung einer Zentralblende unter den Kondensor. Eine solche Blende für Kondensor num. Ap. 1,4 liefert *Zeiss* zu 68 M. Sie wird nach völliger Öffnung der Irisblende in den Diaphragmenträger des Abbeschen Beleuchtungsapparates eingelegt. Es ist dabei erforderlich, mit Wasser eine Immersion zwischen Objektträger und Kondensor herzustellen. (Vgl. Fig. 6.) Die Anwendung dieser Blende ist aber mehr als Notbehelf zu betrachten. Der achromatische Kondensor liefert ein sehr farbiges Gesichtsfeld, und der Kontrast läßt infolge der inneren Reflexion im Kondensor zu wünschen übrig. Es ist daher vorzuziehen, für Dunkelfeldbeobachtungen die besonders dafür bestimmten Dunkelfeldkondensoren (Paraboloidkondensor der Firma *Zeiss*, Druckschrift Mikro 230, 1480 M) oder den neueren Wechselkondensor, Druckschrift Mikro 365, 3200 M, welcher raschen Wechsel von der Dunkelfeldbeleuchtung zur Hellfeldbeleuchtung und umgekehrt ermöglicht, und die Benutzung von Objektträgern zwischen 0,1 und 0,2 mm Stärke gestattet, zu benutzen. Zur Beobachtung benutzt man zweckmäßig die starken Trockensysteme oder noch besser die besonderen Ölimmersionen mit geringer Apertur, wie *Zeiss*-Achromat 50 num. Ap. 0,90 mit Einhängeblende ($^1/_7$), 2280 M, oder Apochromat 58 num. Ap. 0,85 (x), 4800 M. Die gewöhnlichen Immersionen müssen in der Apertur durch eine Einhängeblende stark

[1]) Diese Einrichtungen und die Art ihrer Verwendung sind näher beschrieben bei N. Gaidukov, Dunkelfeldbeleuchtung und Ultramikroskopie, 1910; ferner bei W. Scheffer, Wirkungsweise und Gebrauch des Mikroskops, 1911, S. 103 ff.

abgeblendet werden, damit sie benutzt werden können. Zur Untersuchung bringt man Wasser oder Zedernholzöl auf die Oberfläche des Kondensors (Immersions-Kondensor) und legt den Objektträger so auf, daß keine Luftbläschen entstehen¹). Die Dunkelfeldbeleuchtung wird hierbei durch den eigentümlichen Verlauf der beleuchtenden Strahlen im Mikroskop-Fokus erreicht, der es bedingt, daß sie sämtlich an der Oberfläche des Deckglases eine Totalreflexion erleiden und infolgedessen nicht in das Beobachtungsobjektiv eintreten können (vgl. Fig. 6). Nachteile besitzt diese Einrichtung in den Schwierigkeiten beim Zentrieren und in der geringen Lichtstärke. *Winkel* liefert einen Dunkelfeldkondensor zum Preise von 1480 M; ohne Behälter 1280 M. Objektive, deren Apertur höher als 0,90 ist, müssen mit einer Einhängeblende (Preis 60 M) versehen werden.

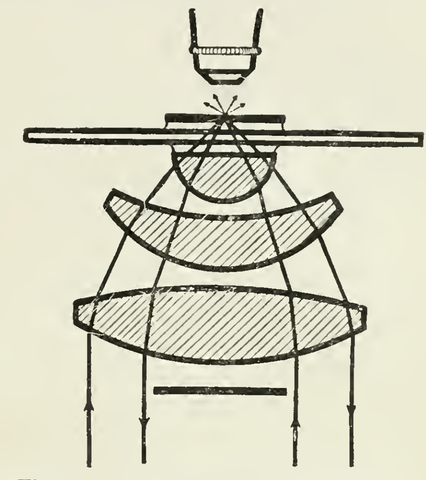


Fig. 6. Abblendung im Immersions-Kondensor.

Viel Vollkommeneres leistet der Paraboloidkondensor nach Siedentopf (vgl. Fig. 7), der an Stelle des gewöhnlichen Kondensorsystems in die Schiebhülse des Beleuchtungsapparats hineingeschoben werden kann. Es ist ein Kondensor mit plankonvexem Glaskörper, dessen konvexe Krümmung ein Rotations-Paraboloid darstellt (P in Fig. 7). Die darunter eingeschaltete Zentralblende *B* hält Strahlen von der Apertur 0 bis 1,1 ab. Der Fokus des Paraboloids liegt in der Oberfläche des Objektträgers *O*, der durch die Immersionsschicht *I* mit dem Paraboloidkondensor in Verbindung steht. Zum Studium lebender Bakterien²), ferner zur ultramikroskopischen Untersuchung dünner zytologischer Objekte, Diatomeen u. ä. ist diese Einrichtung

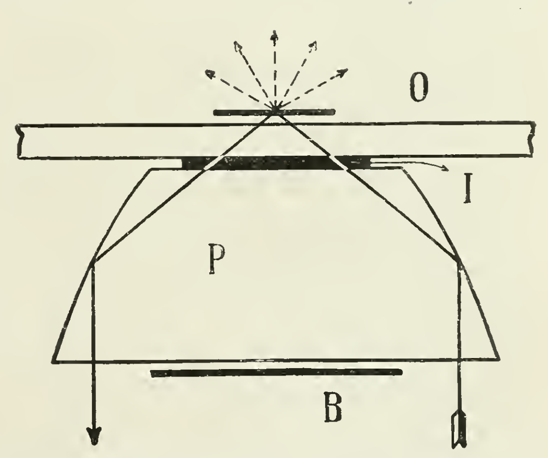


Fig. 7. Paraboloidkondensor nach Siedentopf. Die beleuchtenden Strahlen sind ausgezogen, die im Objekt abgebeugten gestrichelt.

¹) Nähere Angaben, besonders Gebrauchsanweisung, in den Publikationen der *Zeiss*schen Werkstätte über Ultramikroskopie und Dunkelfeldbeleuchtung, Heft 5: Abblendung im Immersions-Kondensor, 4. Ausg. 1911, Mikro 231.

²) Vgl. Abschnitt XXI dieses Praktikums.

sehr geeignet. Nach dem Gebrauch ist der Paraboloidkondensor stets mit einem weichen Leinwandlappen vom Immersionsöl zu reinigen, wenn nötig, unter Zuhilfenahme von Benzin. — Als Lichtquelle beim Arbeiten mit dem Dunkelfeldkondensor kann sowohl elektrisches Bogenlicht, wie Sonnenlicht zur Verwendung kommen. *Zeiss* empfiehlt hierzu besonders seine elektrische Mikroskopierglühlampe mit besonderer Dunkelfeldbirne (vgl. S. 36). Der Kardioidkondensor, das Kardioid-Ultramikroskop, ferner die übrigen ultramikroskopischen Einrichtungen nach Siedentopf, bzw. Siedentopf und Zsigmondy, die von *Zeiss* geliefert werden, bieten für unsere Aufgaben keine Vorteile.

Auch von den anderen bekannten Firmen werden Einrichtungen zur Beobachtung im Dunkelfeld konstruiert. So fertigt z. B. *Leitz* einen „konzentrischen Spiegelkondensor“ an, der an Stelle des gewöhnlichen Kondensors in den Beleuchtungsapparat des Mikroskops von unten eingeschoben werden kann. Ein „Spiegelkondensor B“ kann auch verwendet werden, wenn ein Mikroskop fremden Fabrikats mit oder ohne Beleuchtungsapparat vorhanden ist (Nr. 110 bis 112 des Katalogs 46 D, Preis je 1800 M). Der konzentrische Hell-Dunkelfeldkondensor derselben Firma erlaubt raschen Wechsel zwischen Dunkelfeld- und Hellfeldbeleuchtung sowie eine kombinierte Feldbeleuchtung. Sein Preis beträgt 2600 M. Objektive mit hohen Aperturen, wie Immersionssysteme, müssen durch eine Trichterblende (Nr. 113, Preis 80 M) abgeblendet werden. Als Lichtquelle für die Beobachtungen im Dunkelfeld empfiehlt *Leitz* seine Liliputbogenlampe auf Stativ für 4 Amp. Stromstärke, die an jede Hausleitung mittels Steckkontakt unter Zwischenschaltung eines der Leitungsspannung entsprechenden Widerstandes angeschlossen werden kann. Sie ist sowohl für Gleich- als auch für Wechselstrom zu erhalten und kostet 1200 M; mit Beleuchtungslinse am Lichtabschlußrohr (vgl. Fig. 14 links und Fig. 55 rechts) 400 M mehr. Die Widerstände und Kohlen können ebenfalls (Nr. 127 bis 129) von *Leitz* bezogen werden. Wer die Betriebskosten der Bogenlampen scheut, findet ein brauchbares Modell in der *Leitz*-Mikroskopierlampe für Dunkelfeldbeleuchtung mit 100- bzw. 200-Wattlampe, die mit Steckkontakt an jede Hausleitung angeschlossen werden kann. Der Preis beträgt 1000 M bzw. 1200 M[1]).

Präparier-Mikroskope. Außer dem zusammengesetzten Mikroskop oder Kompositum, das meist kurzweg als Mikroskop bezeichnet wird, ist auch noch ein einfaches, das sogenannte Präpariermikroskop oder Simplex beim Arbeiten nötig. Für die meisten Zwecke genügt das als „Einfaches Lupenmikroskop“ bezeichnete Präpariermikroskop (vgl. den XVI. Abschn.) von *Leitz* (Nr. 208 des Katalogs Nr. 46 C), das mit zwei aplanatischen Lupen nach Steinheil von 10- und 20-facher Vergrößerung 2320 M kostet. Auch das kleine Präpariermikroskop von *Reichert* (L 79 des Katalogs DS 6), das sich durch Zahn und Trieb einstellen läßt, 10-fache Vergrößerung ermöglicht und mit Kasten 1880 M kostet, wäre hier zu nennen. Die dabei in Anwendung kommende Lupe kann ebenfalls

[1]) Über andere Beobachtungseinrichtungen mit Dunkelfeldbeleuchtung vgl. Reg. IV, Fluoreszenz- und Lumineszenz-Mikroskop.

als Handlupe dienen. — Ähnliche große und kleine Präpariermikroskope werden zu annähernd denselben Preisen auch von anderen Optikern geliefert.

Auch monokulare, bildaufrichtende Präpariermikroskope werden von verschiedenen Werkstätten, so von *Zeiss* und *Leitz* hergestellt. Sie tragen einen Tubus, welcher zwei Porrosche Prismen enthält (vgl. den XVI. Abschn.). Diese kehren das von den Objektiven entworfene Bild um und ermöglichen damit das Präparieren bei aufrechtem Bild. Bei *Leitz* ist ein ähnliches, zusammenlegbares, also auch für Reisezwecke geeignetes (nach Pfeiffer) mit den Objektiven 1, 2, 3 (Vergr. 20—85) für 6120 M zu haben (vgl. den XVI. Abschn.). Zu gleichem Zweck kann man auch ein Mikroskop verwenden, auf dessen Okular ein bildumkehrendes Prisma aufgesetzt wird; bei *Zeiss* (Katalog 1913, 12 85 20) 840 M. Bei *Leitz* ein ähnliches Prisma (Katalog 46 D, Nr. 179) 720 M. — Auch kann man dabei die Trommel mit Porroschen Prismen von *Zeiss*, Nr. 12 85 10, für 1600 M, die mit Rohrstutzen zum Einstecken in den Tubus und zur Aufnahme eines beliebigen Okulars versehen ist, verwenden. Das Präparieren unter dem zusammengesetzten Mikroskop hat bei sehr kleinen Gegenständen den Vorteil, daß man diese nicht aus dem Gesichtsfelde verliert und somit nicht bei Übertragung vom Kompositum nach dem Simplex, oder umgekehrt, erst zu suchen hat. Das Präparieren mit dem bildumkehrenden Okular bietet kaum größere Schwierigkeiten als mit dem Simplex; beim bildumkehrenden Prisma wirkt hingegen im Anfang der Umstand störend, daß es eine Neigung der optischen Achse um 30° herbeiführt, und man somit nicht gerade abwärts in der Richtung der präparierenden Hände, vielmehr schräg nach vorn in das Prisma hineinzusehen hat. Dieses bildumkehrende Prisma verkleinert das Gesichtsfeld, falls es mit einem anderen, als dem Okular 2 benutzt wird. Das Kompositum, welches man in dieser Weise zum Präparieren gebraucht, muß mit entsprechend schwächeren Objektiven ausgerüstet sein, wozu das Objektiv 1,2—2,4 (Nr. 11 10 04 von *Zeiss* für 1480 M) sich besonders empfehlen würde. Dieses Objektiv besteht aus zwei achromatischen Linsen, die durch einen drehbaren Ring einander genähert oder voneinander entfernt werden, wobei die Vergrößerung sich nahezu im Verhältnis von 1 : 2 allmählich verändert.

Von der Firma *Zeiss* wird auch ein sehr empfehlenswertes, binokulares, stereoskopisches Mikroskop nach Greenough[1] (Stativ XA) zum Preise von 8800 M (Katalog, Ausg. 35, Mikro 184, 1913, S. 70) hergestellt (Fig. 8), welches die Beobachtung und Präparation kleiner Objekte durch eine der Wirklichkeit entsprechende, körperliche Wiedergabe im aufrechten Bilde erleichtert. Das feststehende Stativ trägt einen Doppeltubus, der durch Zahn und Trieb einstellbar ist. Jeder der beiden mit den Objektivenden konvergierenden Tuben ist mit einem bildumkehrenden Okular und einem Objektiv versehen. Als Okulare benutzt man für dieses Mikroskop die Huyghensschen Okulare 1—5 oder die orthoskopischen Okulare 5a und 6 mit erweitertem Gesichtsfelde; verschiedene Objektiv-

[1]) Vgl. S. Czapski u. W. Gebhardt, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XIV, 1897, S. 289; ferner F. Jentzsch, Ebenda, Bd. XXX, 1913, S. 299 und F. Emich, Ebenda, S. 487.

paare, im Preise von 1600—1680 M das Paar, können zu dem Stativ geliefert werden. Die Objektivpaare sind auf Schlitten montiert; sie müssen für jedes Stativ besonders justiert werden. Die Vergrößerungen, die mit diesen Okularen und Objektiven zu erreichen sind, liegen zwischen 8- und 100-fach. — Der obere Teil des Stativs ist abnehmbar und kann auf eine Gabel aus Hartgummi, die jedem Stativ XA beigegeben wird, aufgeschraubt werden (vgl. Fig. 8 b). Dadurch läßt sich das Instrument größeren, beliebig geformten Objekten aufsetzen und für deren Untersuchung verwenden. *Leitz* liefert ebenfalls ein stereoskopisches Binokular-Mikroskop nach Greenough.

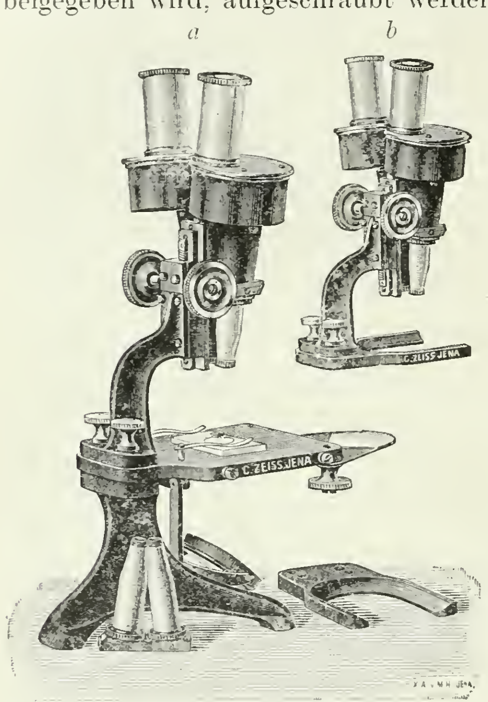


Fig. 8. *a* Binokulares stereoskopisches Mikroskop *Zeiss*, Stativ XA. Unten rechts Hartgummigabel, auf welche der abnehmbare, obere Stativteil *b* aufgeschraubt werden kann.

Zeiss fertigt außerdem ein ganz ähnliches binokulares Präpariermikroskop an, dessen Doppeltubus von einem besonderen Stativ getragen wird, das jede Art der Orientierung und Einstellung zuläßt (Stativ XB)[1]). Man kann unter anderem den Doppeltubus so verstellen, daß die optische Achse des einen Tubus mit der gewöhnlichen Stellung der Mittellinie beider zusammenfällt. So wird es ermöglicht, dieses Mikroskop auch monokular zu verwenden. Zu diesem Zweck wird ein Objektivschlittenstück beigegeben, welches gleichzeitig die untere Öffnung des anderen, unbenutzten Tubus verschließt. Die beiden Objektive entsprechen a_2 des *Zeiss*schen Katalogs. Mit den Okularen 1—4 können Vergrößerungen von 20—45 bei ca. 40 mm Bildweite bewirkt werden. Um Untersuchungen im durchfallenden Licht anzustellen, nimmt man zweckmäßig den Präpariertisch Nr. 12 49 18 zum Preise von 1600 M hinzu. Gegen den Doppeltubus kann ohne weiteres eine Stereoskopkamera ausgewechselt werden[2]). *Leitz*, *Seibert* u. a. liefern binokulare, stereoskopische Präpariermikroskope zu etwas niedrigeren Preisen. So stellt *Leitz* ein großes binokulares Präpariermikroskop her, das alle Vergrößerungen zuläßt und sich sehr bewährt hat.

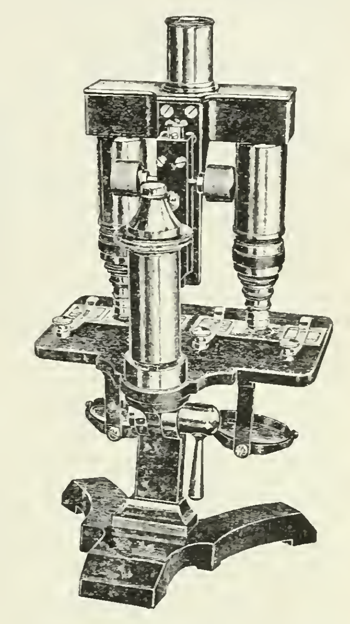
Binokulare Mikroskope[3]). Das binokulare Mikroskopieren, das viele Vorzüge bei der Beobachtung gewährt, bürgert sich

[1]) Vgl. H. Braus u. L. Drüner, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XIV, 1897, S. 5.
[2]) Vgl. L. Drüner, Ebenda, Bd. XVII, 1900, S. 281.
[3]) F. Jentzsch, Ebenda, Bd. XXX, 1913, S. 299.

langsam ein. Das plastische Sehen ist für manche Untersuchungen sehr wertvoll. *Leitz* fertigt ein Stativ AABM mit auswechselbarem monokularen und binokularen Tubus an. Während die Beobachtung mit dem binokularen Tubus durchgeführt wird, findet für Mikrophotographie und Projektion der monokulare Tubus Verwendung. Das *Leitz*sche Stativ CB — binokulares Mikroskop mit einem Objektiv — besitzt nur einen binokularen Tubus. Monokulare Stative lassen sich durch einen von *Leitz* hergestellten, binokularen Stereo-Tubusaufsatz für binokulare Beobachtung einrichten.

Auch *Reichert*-Wien fertigt Mono-Stereo-Mikroskope an, d. h. Mikroskope, bei denen an einem Gelenk ein monokularer oder ein binokularer Tubus angebracht werden kann.

Vergleichsmikroskope. Bei manchen vergleichenden Untersuchungen oder auch Demonstrationen leistet das Vergleichsmikroskop nach Thörner gute Dienste. Ein solches läßt die gleichzeitige Beobachtung von zwei Präparaten, also die unmittelbare Vergleichung von zwei Objekten zu. Es besteht aus zwei Tuben mit gemeinsamem Okular und Stativ (vgl. Fig. 9). Während bei Mittelstellung des Okulars beide Objekte durch Prismen in zwei aneinander liegenden, halbkreisförmigen Gesichtsfeldern sichtbar werden, kann durch Verschiebung nach rechts oder links jedes einzelne Präparat für sich ins Gesichtsfeld gebracht werden. Dieses Vergleichsmikroskop wird von *Seibert* mit den Objektiven 2, 5, $^1/_{12}$ und den Okularen 1, 2, 3 für 25 640 M geliefert. Bei *Leitz* kostet das Vergleichsmikroskop ohne Objektive mit Schrank 10400 M. — Auf ähnlichem Prinzip beruht das Vergleichsokular, das aus dem Oberteil des Vergleichsmikroskops mit den Prismen und dem Okular besteht. Es hat den Vorteil, daß man mit ihm zwei beliebige Mikroskope verwenden kann, in deren Tuben man die Rohrenden des Prismenaufsatzes einsteckt; es wird von *Seibert* zum Preise von 4000 M angefertigt. *Leitz* berechnet für ein Vergleichsokular mit Behälter 2400 M.


Fig. 9. Vergleichsmikroskop nach Thörner.

Lupen. Zu den notwendigsten Hilfsmitteln der mikroskopischen Forschung gehört eine gute Lupe, weil es oft gilt, sich mit dieser erst über den Gegenstand zu orientieren, der bei stärkerer Vergrößerung weiter untersucht werden soll. Falls das Präpariermikroskop mit Lupen ausgerüstet ist, können diese, wie schon erwähnt wurde, als Handlupen dienen. Außerdem liefert *Zeiss* Lupen, die wie ein Monokel sich bequem einklemmen lassen und einen so hohen Fassungsrand besitzen, daß sich das Auge beim Gebrauch der Lupe in dem richtigen Abstand von der inneren Fläche der 30 mm Durchmesser besitzenden Linse befindet (Monokellupen). Sie

sind deshalb vorteilhaft zu verwenden, weil man bei ihrem Gebrauch beide Hände frei behält. Vergr. 1,7—3,6-fach, Preis 232 M (Nr. 14 70 00 bis 14 70 03 bei *Zeiss*, Med. 63). Auch binokulare Lupen liefert *Zeiss*, die eine bequeme Beobachtung kleiner Objekte bei schwacher Vergrößerung ermöglichen. Das zwecks Abhalten des seitlichen Lichtes mit Augenmuscheln versehene Lupenpaar wird mit Hilfe eines Kopfbandes vor den Augen festgehalten. Preis (*Zeiss*, Med. 1) 1613 M. Die Lupen können auch mittels Zapfen an einem Lupenstativ angebracht und verwendet werden. Eine binokulare Lupe ist auf Veranlassung von F. E. Schultze ebenfalls von Mechaniker *Westien* in Rostock konstruiert worden. Sie besteht aus zwei Brückeschen Lupen, die zu einer binokularen Stativlupe vereinigt sind, und läßt sich sowohl frei, als auch an einem entsprechend konstruierten Stativ als Präparierlupe verwenden. Sie erleichtert sehr die körperliche Auffassung des gelieferten Bildes. Auf die sehr brauchbare, von *Leitz* hergestellte binokulare Präparierlupe mit großem Sehfeld sei besonders hingewiesen. Ebenfalls zum Präparieren sehr geeignet ist das *Leitz*sche Säulenstativ mit Universalschwenkarm.

Zeichenapparate. Am meisten in Gebrauch ist jetzt der Abbesche Zeichenapparat mit Prismenwürfel und Spiegel, besonders jene Konstruktion, bei welcher das Prismengehäuse samt Spiegel sich mit Hilfe eines Scharniers nach hinten oder seitlich ausklappen läßt (Fig. 77, S. 142). Das hat den Vorteil, daß der Apparat am Mikroskop nach Bedarf verbleiben kann, um benutzt oder zurückgeklappt zu werden. Dieser, der kleine Zeichenapparat nach Abbe (Nr. 12 60 10 des *Zeiss*schen Katalogs von 1922, Mikro 368), kostet 1360 M. Die Zeichenfläche wird sichtbar durch zweimalige Reflexion an einem Spiegel und an der versilberten Hypotenusenfläche eines kleinen Prismas im Augenpunkt des Okulars. Das mikroskopische Bild gelangt durch eine Öffnung in der Versilberung jenes Prismas mittels eines ihm angekitteten, es so zu einem Würfel ergänzenden, zweiten Prismas, direkt zum Auge. So fallen Spitze des Zeichenstiftes und mikroskopisches Bild auf der Zeichenfläche zusammen. Der Spiegel ist bis zu einer Neigung von 45° drehbar. Die Bilder können, falls sie nicht zu groß sind, ohne merkliche Verzerrung auf einer horizontalen Fläche gezeichnet werden. Da diese Zeichenfläche in der deutlichen Sehweite des Zeichnenden liegen muß, so wird der Kurzsichtige sie dem Spiegel nähern, der Weitsichtige sie von ihm entfernen. Wünscht er die Zeichnung in der Entfernung von 250 mm, für welche die vom Optiker angegebenen Vergrößerungen[1]) gelten, zu entwerfen, so muß er über der oberen Öffnung des Zeichenapparates ein kleines Brillenglas anbringen lassen, dessen Stärke er in Dioptrien dem Optiker bei Bestellung des Zeichenapparates anzugeben hat. Es ist sehr wichtig, daß die Zeichenfläche und das mikroskopische Bild dieselbe Helligkeit besitzen; daher sind dem Zeichenapparat Rauchgläser beigegeben, die in ihn eingesetzt werden können und die vorhandenen Helligkeitsunterschiede aufheben. Man klemmt den Apparat durch Schrauben am oberen Tubusende fest und kann ihn mit den Huyghensschen Okularen 2 und 3 und den Kompensationsokularen 4 und 6 benutzen; auch leistet er mit vier- und sechsfachen aplanatischen Lupen an

[1]) Über Bestimmung der Vergrößerung der Zeichnung vgl. S. 143.

entsprechenden Stativen gute Dienste. — Nach demselben Prinzip ist der noch vollkommenere Zeichenapparat Fig. 10 (Nr. 12 60 11 des *Zeiss*schen Katalogs, Mikro 368), der 2600 M kostet, konstruiert worden. In diesem Apparat ist das Prismenwürfelchen einstellbar. Blendvorrichtungen gestatten jede Helligkeitsänderung der Zeichenfläche wie des Bildes. Prisma und Blendvorrichtungen können zur Seite gedreht werden. Werden sie wieder eingeschaltet, so gibt eine Schnappvorrichtung ihre normale Lage an. Endlich kann auch das gewöhnlich zu benutzende Prisma durch ein anderes mit größerer Lochöffnung vertauscht werden. — Sehr brauchbar bleibt auch noch das sehr einfache Zeichenprisma in Metallfassung (Camera lucida[1]); Nr. 12 60 00, Preis 840 M). Es wird mittels eines Klemmrings am oberen Tubusende befestigt und kann, da man es leicht zur Seite zu klappen und wieder einzustellen vermag, dauernd am Mikroskop verbleiben. Die Zeichnung muß freilich auf einer unter 25° gegen die Horizontale geneigten Zeichenfläche ausgeführt werden (vgl. S. 143). Auch bei diesem Prisma läßt sich für Kurz- und Weitsichtige ein Brillenglas anbringen; am besten liegt es frei in einem um die Augenöffnung des Zeichenprismas befestigten Ring, um herausgenommen, nach Bedarf ganz entfernt und auch gereinigt werden zu können. Der Preis des Zeichenprismas wird durch eine solche Vorrichtung nur ganz unwesentlich erhöht. — *Leitz* konstruierte zwei Zeichenokulare (Fig. 11), bei denen das Zeichenprisma mit einem Okular fest verbunden ist. Das eine Zeichenokular (links in Fig. 11, Preis 880 M) wird am aufrecht stehenden Mikroskop benutzt und verlangt ein Zeichnen auf entsprechend geneigter Zeichenfläche, das andere Zeichenokular (rechts in Fig. 11, Preis 1080 M) wird bei umgelegtem Mikroskop verwendet; als Zeichenfläche dient unmittelbar der Tisch (vgl. Fig. 13). Die Neigung der Zeichenfläche hat für das erstgenannte Okular 12° zu betragen, die Neigung des Mikroskops bei Benutzung des zweiten Okulars genau 45°. Das Prisma ist der Zeichenfläche zuzuwenden und das Okular mit der Klemmschraube am Tubus zu befestigen. Diese Zeichenokulare haben den Vorteil, daß das Prisma in ihnen dauernd richtig eingestellt bleibt, doch ist man andererseits an das bestimmte Okular auch dauernd gebunden. Fig. 12 vergegen-

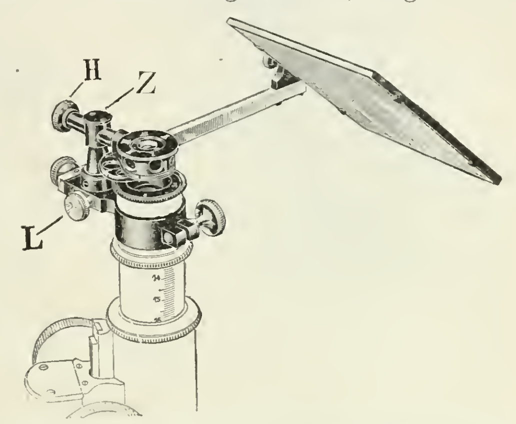


Fig. 10. Zeichenapparat nach Abbe (Nr. 12 60 11 bei *Zeiss*). Dieser Zeichenapparat wird mit Hilfe des Klemmrings und der Schraube am Tubus befestigt. Das Prismenwürfelchen wird durch die Schrauben *L* und *H* zentriert. Die Helligkeit der Zeichenfläche und des Bildes wird variiert durch die mit Rauchgläsern zu versehende Kappe und die ebenfalls mit Rauchgläsern zu versehende, exzentrische Scheibe. Beide sind um den vertikalen Zapfen *Z* drehbar. Der Spiegel *A* ist verstellbar.

[1]) Vgl. Figur 78, S. 143.

wärtigt den Gang der Strahlen in dem für das aufrecht stehende Mikroskop bestimmten Zeichenokular. Ein in der Metallfassung am Prisma befindlicher Falz kann graue Glasplättchen aufnehmen, die

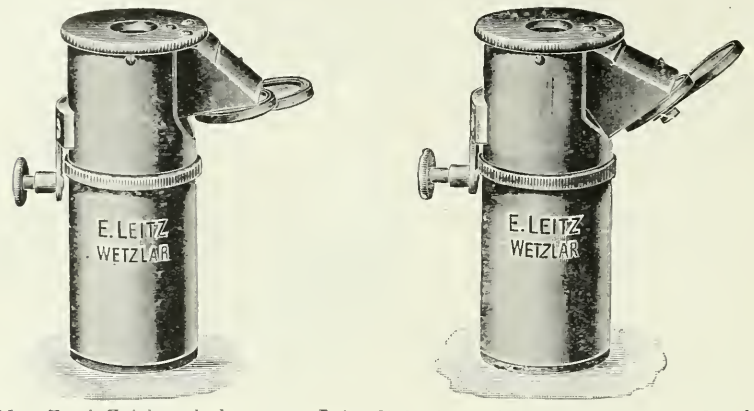


Fig. 11. Zwei Zeichenokulare von *Leitz*, links für aufrecht stehendes, rechts für umgelegtes Mikroskop.

bestimmt sind, das von der Zeichenfläche kommende Licht nach Wunsch abzublenden. Über dem Okular anzubringende Brillengläser können die Sehweite des Beobachters auf die Entfernung der Zeichenfläche korrigieren. Auch andere Okulare als die gelieferten lassen sich in ähnlicher Weise mit Prismen und Zeichenokularen verbinden. — Die meisten Optiker liefern Zeichenpulte, die beim mikroskopischen Zeichnen zu benutzen sind und meist eine Verstellung in senkrechter Richtung und mit Neigungswinkel gestatten. Ihr Preis beträgt 200 oder 400 M.

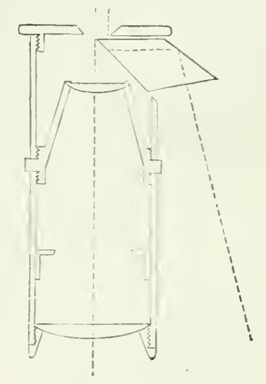


Fig. 12. Längsschnitt des Zeichenokulars von *Leitz* für aufrecht stehendes Mikroskop, mit Andeutung des Strahlenganges.

Zum Zeichnen mikroskopischer Präparate und zum Demonstrieren für einige Personen ist der Zeichenspiegel mit Klemmring nach Edinger geeignet. Wird dem um 45° zur Horizontalen geneigten Mikroskop der Klemmring aufgesetzt und dem daran befestigten Spiegel eine Neigung von 22½° zur Wagerechten gegeben, so erscheint im verdunkelten Raum — d. h. wenn man sich eine Dunkelkammer herstellt, aus der nur der untere Teil des Mikroskops herausragt — auf dem Tisch das projizierte Bild des Objektes (vgl. Fig. 14). Als Lichtquelle wird am besten eine Liliputbogenlampe verwendet. Die vollständige Vorrichtung wird von *Leitz* für 4000 M geliefert. Der Klemmring mit Spiegel ist bei *Leitz* für 600 M (Katalog Nr. 46 D, Nr. 169) zu haben.

Weiter hat, um das Zeichnen mikroskopischer Objekte selbst bei relativ hoher Vergrößerung zu erleichtern, Edinger einen Zeichenapparat konstruiert, der auch zu Projektions- und mikrophotographischen Zwecken eingerichtet werden kann (Fig. 15). Das Bild des

Objekts wird dabei direkt auf das Zeichenbrett projiziert, so daß es nur mit dem Bleistift nachgezeichnet zu werden braucht. Diesen Apparat liefert *Leitz* (Anleitung dazu von 1914) einschließlich Liliputbogenlampe für 4 oder 5 Amp. zum Preise von 13 600 M; die mikrophotographische Einrichtung erhöht den Preis um 6000 M, die Einrichtung zur Projektion um weitere 4400 M.

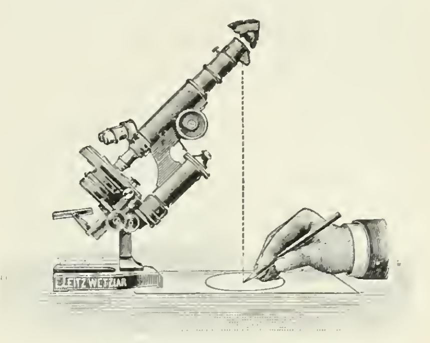


Fig. 13. Verwendung des Zeichenokulars am umgelegten Stativ.

Namentlich beim Zeichnen von ganz feinen Gegenständen, wo der von der Spitze des Bleistifts geworfene Schatten das genauere Zeichnen erschwert bzw. verhindert, empfiehlt es sich, das projizierte Bild bei durchfallendem Licht zu zeichnen. Man verwendet zu diesem Zweck am besten die Mattscheibe eines photographischen Apparats oder ein auf diese gelegtes, durchsichtig gemachtes Papier. Zum Durchsichtigmachen können wir Öl, Benzol oder Xylol verwenden. Bei Anwendung der beiden leicht verflüchtigenden Stoffe wird das Papier wieder undurchsichtig[1]). — Auch ist das Creteursche Verfahren, d. h. das Zeichnen mit einer Nadel auf einer Gelatinefolie, die der Mattscheibe aufliegt, besonders empfohlen worden[2]). Bei Anwendung der vollkommen durchsichtigen, dünnen Gelatinefolie, wie

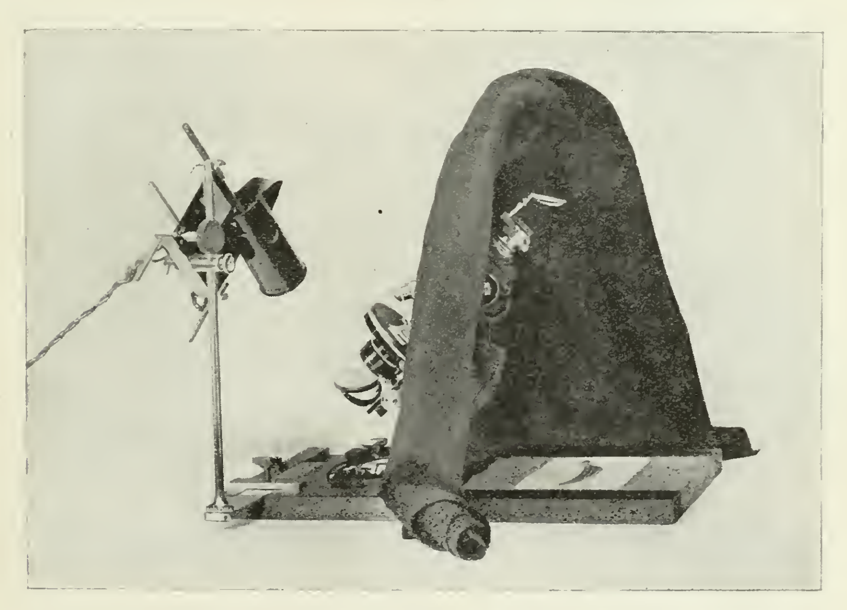


Fig. 14. Zeichenspiegel mit Klemmring nach Edinger beim Gebrauch.

[1]) Vgl. H. Tafner, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXVI, 1909, S. 385.
[2]) Vgl. H. Tafner, Ebenda.

sie die Kupferstecher gebrauchen und wie sie in jeder Zeichenwarenhandlung zu bekommen ist, läßt sich das mikroskopische Bild ohne parallaktische Abweichung auf das genaueste nachzeichnen. Mit feinspitzigen, dicken und dünneren Nadeln werden die Linien in die Folie hineingekratzt, dann mit Graphit- oder Rötelpulver eingerieben, worauf die Linien dunkel auf durchsichtigem Grund erscheinen und das Bild wie ein photographisches Negativ kopiert werden kann. (Vgl. auch Reg. IV, Kopieren.)

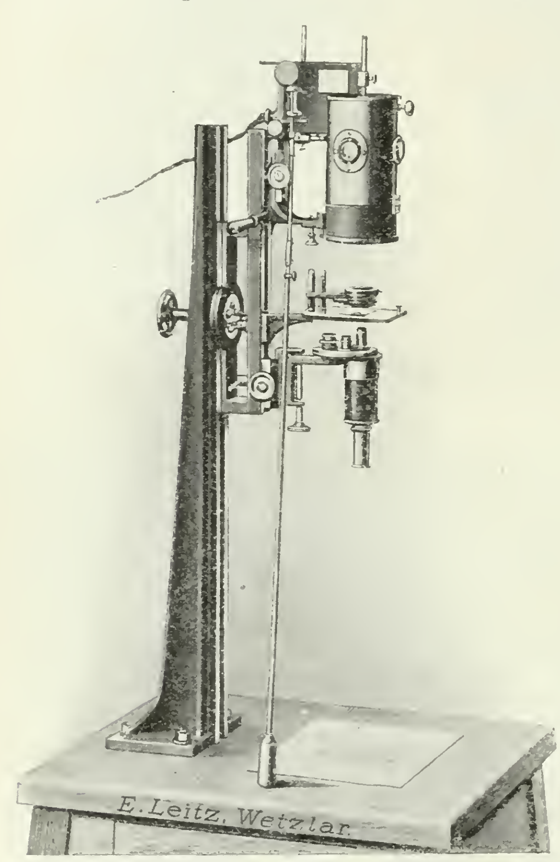


Fig. 15. Zeichen- und Projektionsapparat nach EDINGER.

Hat man die Absicht, ein Objekt in **natürlicher Größe** oder schwacher Vergrößerung bzw. Verkleinerung zu zeichnen, so verwendet man am besten den von *Leitz* für diesen Zweck konstruierten Apparat Nr. 172 des Katalogs 46 D. Dieser Apparat besteht aus einem Lupenstativ mit schwerem Fuß und aus dem Zeichenapparat, der an dem Stativ durch einen Zwischenring befestigt wird. Der Zeichenapparat gleicht dem ABBEschen, nur ist an Stelle des Würfels ein gleichschenklig rechtwinkliges Prisma eingesetzt[1]).

Meß- und Zählapparate. Weiter ist ein **Objektmikrometer** notwendig. Das von *Zeiss* mit 440 M berechnete Objektmikrometer im Etui (Katalog von 1922, Nr. 12 63 00) zeigt auf einem Objektträger einen Millimeter in 100 Teile geteilt; ein anderes Objektmikrometer (Nr. 12 63 10), auf dem ein Zentimeter in Millimeter und davon ein Millimeter in Zehntel-Millimeter geteilt ist, wird für 320 M geliefert. *Leitz* stellt ein auf Glas photographiertes Objektmikrometer, Nr. 160, 2 mm in 200 Teile geteilt, für 240 M her. Recht nützlich ist auch ein Maßstab auf Spiegelglas zur Messung von Zeichnungen, wobei die Teilung ohne Parallaxe der Papierfläche anliegt; er zeigt etwa 50 mm in halbe Millimeter geteilt.

[1]) Vgl. auch C. METZ, Der makroskopische Zeichenapparat. Zeitschr. f. wiss. Mikr., Bd. XXXVII, 1920, S. 55.

Preis bei *Zeiss*, Nr. 12 64 40, 120 M. — Um die Messungen am mikroskopischen Bilde direkt ausführen zu können, muß man über ein Okularmikrometer verfügen. Am einfachsten ist jenes Okularmikrometer, das die Teilung auf einem Glasscheibchen trägt, welches man mit der Teilung nach unten in das Innere eines Okulars auf dessen Blende legt. Es gilt, die Teilstriche scharf zu sehen; unter Umständen erreicht man das durch Emporschrauben der oberen Okularlinse innerhalb ihres Gewindes. Im allgemeinen ist jedoch ein einstellbares Okular vorzuziehen, bei welchem das über dem Mikrometer befindliche Linsensystem verstellbar ist. Der objektive Wert der Teilungsintervalle muß für jede Kombination von Objektiv und Okular bestimmt werden. Das geschieht, indem man das Objektmikrometer als Objekt benutzt und feststellt, wieviel Intervalle des Objektmikrometers durch die des Okularmikrometers gedeckt werden. Der Preis eines solchen Okularmikrometers in Kapsel beträgt bei *Zeiss* (Nr. 11 51 00) 200 M. *Leitz* stellt in einer Tabelle[1]) den Wert der Intervalle auf, welche ein in Zehntelmillimeter geteiltes Okularmikrometer bei der Anwendung seiner verschiedenen Objektive und einer Tubuslänge von 170 mm deckt. Um die Teilung des Okularmikrometers unter allen Umständen scharf einzustellen, ist es erwünscht, daß die obere Linse des benutzten Okulars sich verschieben läßt. Ein solches Huyghenssches Okular, und zwar nach Wunsch Okular 5x (2) (Nr. 11 52 02), 7x (3) (Nr. 11 52 03), inklusive Mikrometer, liefert *Zeiss* für 600 M; *Leitz* ein ähnliches Okular, Nr. 153, für 480 M. Durch Einfügung eines trommelartigen Zwischenstückes kann ein solches Meßokular zur seitlichen Verschiebung des Mikrometerplättchens eingerichtet werden. Der Preis eines solchen Meßtrommelokulars (Nr. 11 55 02, bzw. 11 55 03) stellt sich bei *Zeiss* auf 1280 M, bei *Leitz* auf 1000 M. *Zeiss* führt auch das Kompensationsokular 7x (6) als Meßokular (Nr. 11 54 06) und Meßtrommelokular (Nr. 11 55 06) für Apochromate, im Preise von 1000 und 1680 M. Dieses Okular ist so eingerichtet, daß der Wert eines Intervalls der Teilung bei einer Tubuslänge von 160 mm für jedes Apochromat so viel Mikra (μ), d. h. 0,001 mm, beträgt, als seine Brennweite Millimeter; also für Apochromate von 16,0 mm 0,016 mm, für Apochromate von 8,0 mm 0,008 mm usw. Um gleichzeitig Messungen an verschiedenen Stellen des Objekts in verschiedenen Richtungen und auch Zählungen sehr kleiner Objekte, wie Hefezellen, Bakterien u. ä. vornehmen zu können, benutzt man ein Okularnetzmikrometer. Auf einem Glasplättchen, das auf die Blenden der Okulare gelegt wird, ist ein Quadrat von 5 mm Seitenlänge in quadratische Felder von 1,0 oder 0,5 mm Seitenlänge geteilt. Bei *Leitz* kostet ein Okularnetzmikrometer (Nr. 157) 200 M, bei *Zeiss* (Nr. 11 51 60 und 11 51 65) in Kapsel 200 M[2]).

Das Stufenmikrometer-Okular von *Leitz*, dessen Skala in der Figur 16 dargestellt ist, hat den Vorteil der Übersichtlichkeit. Die Abstände sind auf 0,06 mm festgelegt; bei einer bestimmten Tubuslänge lassen sich für sämtliche Objektive die Mikrometerwerte in runden Zahlen ausdrücken.

[1]) E. Leitz, Das Mikroskop und seine Anwendung. Wetzlar, 1919, S. 36.

[2]) Vgl. auch die auf S. 107 angegebenen Zähleinrichtungen.

Polarisationsapparat. Für manche Untersuchungen kann ein am Mikroskop anbringbarer Polarisationsapparat von großer Bedeutung werden. Seine beiden Hauptbestandteile bilden zwei Nicolsche Prismen, der Polarisator und der Analysator. Jedes der beiden Prismen ist in einer Hülse eingeschlossen. Bei kleinen Stativen wird der Polarisator an Stelle der Blende in den Mantel der Zylinderblende hineingeschoben; zur Benutzung an größeren Stativen mit dem Abbeschen Beleuchtungsapparat ist er aber mit einem tellerförmigen Ansatz an der Fassung versehen, der es gestattet, ihn in den Diaphragmenträger des Beleuchtungsapparates einzuhängen, wobei die gewöhnlichen Diaphragmen und außerdem auch Gips- und Glimmerplättchen über dem Prisma eingelegt werden können. Durch den Polarisator wird das vom Spiegel reflektierte gewöhnliche Licht in gradlinig-polarisiertes verwandelt, d. h. seine Ätherteilchen schwingen jetzt nur noch in einer Ebene und jedes in derselben Richtung. Der Analysator wird auf das Okular des Mikroskops aufgesetzt. Weniger empfehlenswert ist die Benutzung eines Analysatorokulars, welches das Prisma zwischen seinen beiden Linsen eingeschlossen enthält. Der Analysator kann mit einem Teilkreis versehen sein, über dem das Prisma sich drehen läßt; das ermöglicht, den Grad der Drehung abzulesen. Die Nicolschen Prismen, welche sich im Polarisator und Analysator vorfinden, bestehen aus je zwei keilförmigen Kalkspatstücken, die mit Kanadabalsam verbunden sind. (Über die Anwendung des Polarisationsapparats vgl. S. 114ff.) Von der Firma *Zeiss* sind Polarisatoren für die mit Abbeschen Beleuchtungsapparat versehenen, großen und die mit vereinfachtem Beleuchtungsapparat versehenen, kleinen Stative zu beziehen. Erstere (Polarisator I. Nr. 12 78 01) stellen sich auf 1440 M. Als Analysator empfiehlt es sich, das Prazmowskische Prisma in Messingfassung zum Aufsetzen auf die Okulare zum Preise von 1440 M (Analysator I, Nr. 12 78 31) anzuwenden; dasselbe mit Teilkreis (Analysator II, Nr. 12 78 32) 2000 M. Vollständige Polarisationseinrichtungen werden von *Zeiss* für größere Stative zu 3760 M (Pol. I und Anal. II, Nr. 12 78 81), bzw. ohne Teilkreis (Pol. I und Anal. I, Nr. 12 78 80) zu 3080 M geliefert. Dazu eine Kollektion von 8 Gips- und Glimmerplättchen Nr. 12 79 00 für 176 Mk. Für die meisten Untersuchungen genügt jedoch ein Gipsplättchen Rot I, Nr. 12 79 01, Preis 40 M. Bei *Seibert* (Katalog 1915) stellt sich ein gut eingerichteter, großer Polarisationsapparat mit 2 Teilkreisen auf 2400 M, ein einfacherer auf 1800 M. Auch *Leitz* liefert Polarisationsapparate mit sämtlichen Zubehörteilen.

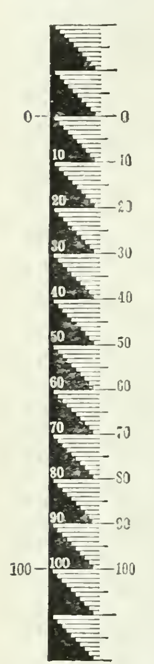


Fig. 16. Skala des Stufenmikrometer-Okulars von *Leitz*.

Wärmeregulatoren. Gilt es ein Objekt bei einer konstanten höheren Temperatur zu untersuchen, so bedient man sich besonderer Heizvorrichtungen[1]). Es sei zunächst der Pfeiffersche Heizschrank erwähnt (*Zeiss* Nr. 12 83 01 — 12 83 05). Es ist das

[1]) Vgl. auch Reg. IV, „Zimmer mit konstanter Temperatur nach Pfeffer". Näheres bei W. Pfeffer, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XIII, 1895, S. 49.

ein das Stativ des Mikroskops bis zur Mikrometerschraube fast luftdicht umgebender Mahagonischrank, dessen vordere Wand ein Glasfenster für den zum Beobachten nötigen Lichteinfall hat. Rechts und links sind gut schließende Klappen im Kasten vorhanden, um den Händen den Zutritt zum Präparat zu gestatten. Der ganze Kasten

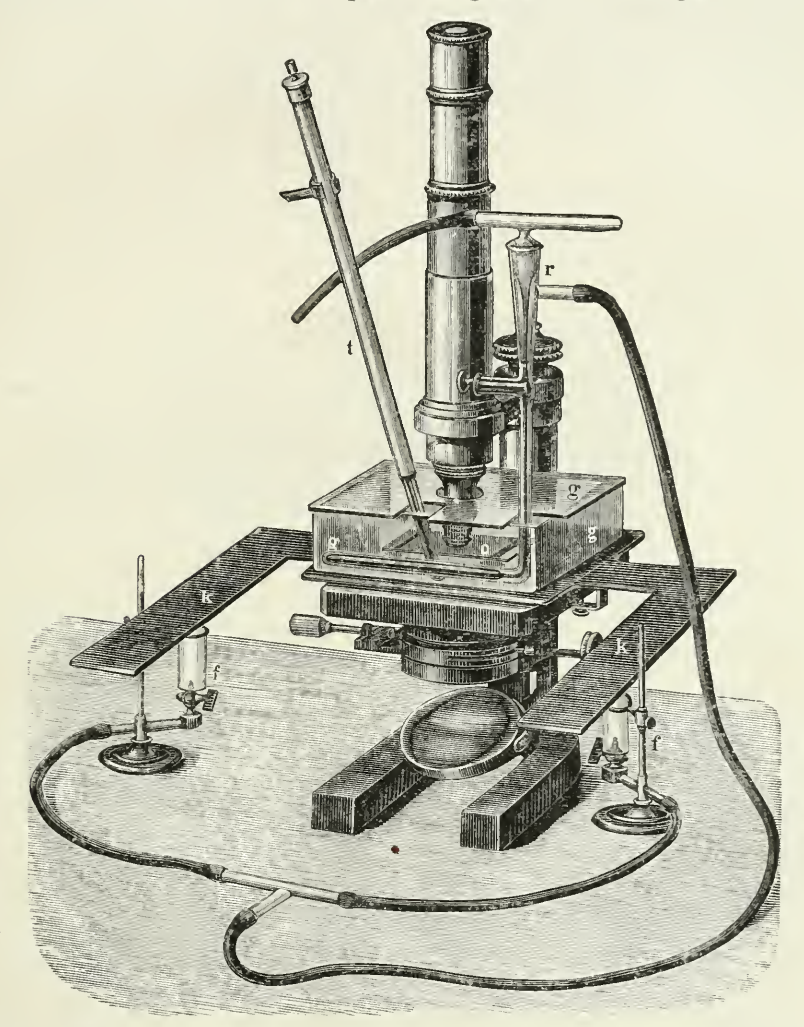


Fig. 17. Totalansicht des fertig aufgestellten, heizbaren Objekttisches nach W. PFEFFER. Die Erklärung der Buchstaben im Text.

steht auf einer dicken Metallplatte mit drei Metallfüßen. Die Heizung erfolgt durch Erwärmung der Platte von unten mittels eines Mikrobrenners (Nr. 12 83 25), zu welchem der Gaszufluß durch einen Thermoregulator geregelt wird. Es kann eine Erwärmung bis auf 45° C ohne Schaden für das eingeschlossene Instrument erfolgen. Ein aus dem Kasten herausragendes Thermometer gibt die Temperatur im Inneren des Kastens, die auch als Temperatur des Objekts gelten kann, an. Der

Preis des Apparats ist je nach Größe 2600—4000 M. — Sehr verbreitet im Gebrauch war bisher der Wärmekasten von J. Sachs, ein beinahe würfelförmiger Kasten von Zinkblech, der ebenfalls das ganze Stativ bis zur Mikrometerschraube in sich aufnahm. Der Kasten hat unten und an den Seiten doppelte Wandungen, die einen Abstand von 25 mm zwischen sich fassen. Dieser Zwischenraum wird mit Wasser angefüllt. Vorn hat der Kasten eine Öffnung, die mit gut passender, aber nicht besonders befestigter Scheibe verschlossen ist. Oben wird der Kasten mit einem dicken Pappdeckel bedeckt, der sich genau

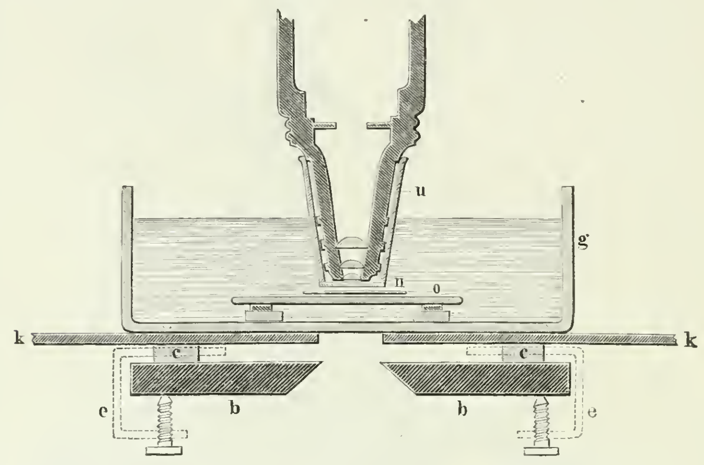


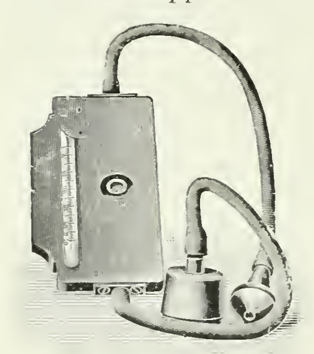
Fig. 18. Vertikalschnitt durch das Objektiv, das Wassergefäß *g*, den Objektträger *o*, die kupferne Heizplatte *k* und den Tisch des Mikroskops *b*. Bei *e* sind die Befestigungsklammern angedeutet, die in Wirklichkeit in einer anderen Schnittebene liegen. Nach W. Pfeffer. Größe $^2/_3$.

an das Mikroskop anfügt. Aus einer Öffnung im Pappdeckel ragt das Thermometer hervor, welches die Temperatur im Inneren des Kastens angibt. Verschließbare Öffnungen rechts und links an dem Kasten gestatten das Einlegen und Verschieben des Präparates. Um eine Abkühlung bei dieser Operation zu verhindern, hat Pfeiffer hier hohle Kautschukfinger anbringen lassen, in welche man die Finger einführen kann, um das Präparat zu bewegen. Die Erwärmung des Wassers erfolgt am besten durch Thermoregulatoren, doch führen, infolge ihrer guten Wärmeleitung, die herausragenden Metallteile des Mikroskops in dem Pfeifferschen und dem Sachsschen Wärmekasten Wärme von den Präparaten ab und veranlassen eine anhaltende Abkühlung derselben. Auch wird durch die gleiche Ursache leicht ein Beschlagen des Objektivs veranlaßt. Man kann diesem Übelstand durch eine entsprechende Erwärmung der herausragenden Mikroskopteile abhelfen, die aber wiederum besondere Vorrichtungen verlangt. Allen diesen Übelständen hilft der Pfeffersche heizbare Objekttisch ab, der in der Tat alles leistet, was von einem solchen Apparat sich verlangen läßt. Es ist das Präparat bei dieser Einrichtung unmittelbar zu sehen, daher auch leichter zu handhaben und besser zu kontrollieren. Der betreffende Objekttisch (Fig. 17) kann von *Petzold*-Leipzig-K.-Z. bezogen werden. Bei *Leitz* ist der Pfeffersche heizbare Objekt-

tisch für 800 M erhältlich. Die Temperatur dieses Objekttisches wird durch Wasser von regulierbarer Temperatur, in welchem der Objektträger liegt, bestimmt. Als Wasserbehälter (*g*) dient ein rechteckiger Glaskasten von ungefähr 110 mm Länge, 70 mm Breite und 35 mm Höhe, dessen Boden in dem mittleren Teil beiderseits poliert ist. In diesem Glastrog ruht, etwa 4—8 mm über der Bodenfläche, auf eingelegten Glasbänken der Objektträger (*o*). Der Glaskasten wird etwa zu $^4/_5$ mit Wasser angefüllt. Seine Erwärmung erfolgt vermittels einer Kupferplatte (*k*), die auf zwei 3—4 mm hohen Hartgummistreifen (*c*, Fig. 18) ruht und durch Klammern (*e*, Fig. 18) am Objekttisch befestigt ist. Die Kupferplatte ist in der Mitte durchbohrt, um die Beleuchtung der Objekte vom Spiegel aus zu ermöglichen, und läuft in zwei seitliche Arme (*k*, Fig. 17 und 18) aus. Unter diesen Armen befinden sich die beiden mit Glimmerzylindern umgebenen Gasflammen (*f*, Fig. 17), die durch einen empfindlichen Strickerschen Regulator (*r*), dessen rechtwinklig abgebogenes Quecksilbergefäß horizontal im Wasser liegt, geregelt werden. Die Temperatur des Wassers und des Objekts gibt das Thermometer (*t*) an, dessen Quecksilbergefäß sich neben dem Objektträger befindet. Bei längerer Versuchsdauer empfiehlt es sich, die Wasserverdampfung durch Bedecken des Glaskastens mit einer aus zwei Hälften bestehenden und mit entsprechenden Ausschnitten versehenen Glasplatte herabzusetzen. Der Glaskasten ist frei verschiebbar, so daß auch das Präparat nach Wunsch verschoben und durchmustert werden kann. Werden solche Objekte beobachtet, die mit Wasser in Berührung kommen dürfen, so genügt es, das Deckglas, welches sie deckt, mit Wachströpfchen auf dem Objektträger zu befestigen; handelt es sich um Objekte, die vor dem Zutritt des umgebenden Wassers geschützt werden müssen, so gilt es, Objektträger mit undurchdringlichen Luftkammern anzuwenden, in welchen die Objekte in hängenden Tropfen untersucht werden. Solche Kammern können auch auf Gasdurchleitung eingerichtet sein. — Objektive für Wasserimmersion lassen sich unmittelbar zur Beobachtung verwenden, man versenkt sie einfach in das Wasser des Glaskastens und stellt das Objekt ein. In solchen Fällen, wo es mehr auf ein ausgedehntes Gesichtsfeld und große Sehtiefe, als auf starke Vergrößerung ankommt, kann ein von *Zeiss* nach den Angaben von H. Harting ausgeführtes Objektiv, der „Planktonsucher“, benutzt werden[1]). Dieses hat eine vordere Brennweite von 33 mm, Fokalabstand von 36 mm und num. Apertur von 0,11; Vergrößerung mit den Huyghensschen Okularen 1 bis 5: 25- bis 84-fach; Preis inkl. Kapsel 720 M. Handelt es sich um die Beobachtung mit Trockensystemen, die in das Wasser versenkt werden müssen, so ist (wie in Fig. 18 *u*) eine konische Hülse aus lackiertem Messingblech, Nickel oder Glas über das Objektiv zu schieben und mit etwas Baumwolle an ihm zu befestigen. Unten ist diese Hülse durch ein aufgekittetes Deckglas verschlossen, das die Frontlinse des Objektivs direkt berühren muß. Eine homogene Immersion ist nur dann verwendbar, wenn auf dem Deckglas des Objektträgers ein dünnwandiger Glaszylinder mit einem Kitt befestigt ist, den das Immersionsöl nicht angreift. Auch mit Trockensystemen läßt sich bei solcher Einrichtung

[1]) H. Harting, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XV, 1898, S. 1.

arbeiten, die aber der erstgenannten darin nachsteht, daß die Temperatur des Hängetropfens etwas unter der durch das Thermometer angezeigten zurückbleibt. Freilich handelt es sich auch da, bei einer Temperatur des Wassers im Glaskasten von 50° C, um Temperaturen, die nur 0,2 bis 0,4° C weniger betragen. Bei den anderen Einrichtungen bleibt die Wärmeableitung durch die Annäherung des Objektivs bei der schnellen Wärmezufuhr aus dem umspülenden Wasser ohne Einfluß auf die Temperatur des Objekts. So läßt sich eine Temperatur von 50° C während 12 Stunden und länger mit Schwankungen von ± 1° C erhalten, wenn dafür gesorgt wird, daß die Temperatur des Zimmers gleichzeitig nicht über 2° C schwankt. — Natürlich kann mit diesem Apparat auch der Einfluß rascher Temperaturänderungen verfolgt werden, durch stärkeres Erhitzen oder Abkühlen der Kupferplatte oder durch direkte Zufuhr von heißerem oder kälterem Wasser bzw. auch von Eis in das Glasgefäß. — Eine praktische, regulierbare Vorrichtung für den heizbaren Objekttisch führte R. Kraus[1]) ein. Sie besitzt den großen Vorteil, daß eine erwärmte Wasserquelle konstant tagelang den Tisch mit warmem Wasser versorgen kann. R. Kraus[2]) konstruierte ebenfalls einen durch elektrischen Strom heizbaren Objekttisch. Dieser stellt einen hohlen Kasten mit Lichtöffnung dar, der mit Paraffinöl gefüllt ist. In ihm liegt zirkulär eine Silberspirale. Diese wird durch den Strom erwärmt und gibt ihre Wärme an das umgebende Paraffinöl ab. Ferner befindet sich in dem Kasten das elektrische, einstellbare Kontaktthermometer, welches durch sein Steigen bei erfolgtem Kontakt den Strom eines Relais schließt, wobei durch Anziehen eines Ankers der Hauptstrom unterbrochen wird und damit die Temperatur im Paraffinölbad sinkt. Die Einstellung auf eine gewünschte Temperatur erhält man dadurch, daß man den Hauptstrom bis zum Erreichen dieser Temperatur durchleitet. Durch Drehen der Regulierschraube des Kontaktthermometers wird dann der Kontakt hergestellt. Dies wird durch einen klappenden Ton vom Relais angezeigt. Je nachdem man die Schraube vor- oder rückwärts dreht, kann man höhere und niedrigere Temperaturen erhalten.


Fig. 19. Heizbarer Objekttisch nach Stricker.

Heizbare Objekttische nach M. Schultze, nach Pfeiffer und nach Stricker können bei *Leitz*[3]) bezogen werden. Der Strickersche heizbare Objekttisch, den Fig. 19 wiedergibt, besteht aus einer flachen Metallkammer, durch die warmes Wasser geleitet wird; er kann an Stativen mit viereckigem Tisch angeschraubt werden.

Hat man die Absicht, Präparate in Kälte zu untersuchen, so bedient man sich des Gefrierapparats, den *Reichert* (Nr. 186)

[1]) Zentralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenk., Abt. I, Bd. XXXII, 1902, S. 467.
[2]) Ebenda, Bd. XXIII, 1898, S. 16 und Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XV, 1898, S. 64.
[3]) Vgl. den Katalog f. mikrosk. Nebenapparate. Nr. 45 D von *E. Leitz*-Wetzlar.

nach den Angaben von Molisch[1]) konstruiert hat, und der es gestattet, die Objekte bei einer Kälte bis zu — 10° unter dem Mikroskop zu beobachten. Dieser Apparat besteht der Hauptsache nach aus einem Gefrierkasten, der mit Eis beschickt wird und der einen mit Lichtschacht versehenen Behälter besitzt, in welchen das zu benutzende Mikroskop bis zur Höhe der Mikrometerschraube eingesetzt wird. Durch besondere Einrichtungen kann der Mikroskopspiegel, auf welchen das durch den Lichtschacht fallende Licht trifft, und der Objekttisch von außen bewegt werden. Preis des Gefrierkastens 3220 M, des Mikroskops, Stativ IV, mit den Objektiven 3 und 7 a, den Okularen II und IV und den eben angegebenen Einrichtungen 12 040 M. — Einen praktisch eingerichteten Kälteobjekttisch liefert u. a. auch *E. Zimmermann*-Leipzig, nach den Angaben von Schaffnit[2]) zum Preise von 1600 M. Er besteht aus einem Metallkästchen von etwa 90 × 90 × 25 mm und wird mittels zweier Klemmen am Objekttisch des Mikroskops befestigt. Ein Schieberdeckel aus Glas, der in der Mitte eine Öffnung zur Einführung des Objektivs besitzt, schließt das Kästchen nach oben ab. In den Seitenwänden befinden sich Schlitze, durch die der Objektträger geschoben und von zwei Druckfedern an seiner Stelle gehalten wird. Die Kälteerzeugung geschieht durch Kohlensäure. Diese gelangt aus einer Kohlensäureflasche durch ein an der seitlichen Wand des Kästchens angebrachtes, geriffeltes Ansatzrohr, das mittels eines starken Schlauches mit der Kohlensäureflasche in Verbindung steht, in das Kästchen. Zum Abströmen der Kohlensäure sind in den Seitenwänden einige runde Öffnungen vorgesehen. An der Vorderseite des Kästchens befindet sich noch eine Öffnung mit Rohransatz, in die ein Thermometer so eingeschoben werden kann, daß seine Quecksilberkugel in unmittelbare Nähe des Objektträgers gerät. Auf dem Boden der Kältekammer sind zwei Uhrschälchen zur Aufnahme von Äther angebracht sowie eine durch Glasscheibe verschlossene Öffnung zur Beleuchtung des Objekts. In Fällen, in denen mit stärkeren Vergrößerungen gearbeitet werden soll, empfiehlt sich die Einschaltung eines Kondensors. So können mikroskopische Objekte bei den verschiedensten Kältegraden beobachtet werden; Temperaturen niedriger als — 30° lassen sich leicht erzielen. Bei Bestellung sind die Maße des Mikroskoptisches anzugeben.

Arbeitstisch. Jeder feststehende Arbeitstisch kann zum Mikroskopieren benutzt werden, doch soll darauf geachtet werden, daß er nicht zu klein ist. Seine Oberfläche darf nicht glänzen; man läßt sie am besten dunkel beizen. Nach Form und Einrichtung sehr empfehlenswert ist der neue Mikroskopiertisch, den *E. Zimmermann*-Leipzig nach den Angaben von M. Wolff[3]) zum Preise von 1200 M (Preisliste von 1911) anfertigt. Er ist 100 cm lang und 50 cm breit. Seine schwarz gebeizte Platte hat einen ringsum laufenden, 1 cm überstehenden Rand sowie etwas rechts von der Mitte einen mit Deckel verschlossenen, runden Ausschnitt von 15 cm Durchmesser. Darunter hängt in Falzen

[1]) H. Molisch, Untersuchungen über das Erfrieren der Pflanzen, 1897, u. Österr. Chemiker-Zeitung, 1898. Nr. 6.

[2]) E. Schaffnit, Mitteil. d. Kais. Wilh.-Inst. f. Landwirtsch. in Bromberg, Bd. III, 1910 u. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXVIII, 1911, S. 45.

[3]) M. Wolff, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXVI. 1909. S. 100.

ein hölzerner Kasten von 32 cm Tiefe und 16 cm Breite, in den eine große Glasflasche mit Trichter zur Aufnahme von Spülflüssigkeiten und dergl. hineingestellt werden kann. Den Tisch stellt man so auf, daß sich das Mikroskop in 1½—2 m Entfernung vom Fenster befindet. Von jeder anderen Seite einfallendes Licht ist auszuschließen. Jede Lage des Fensters ist gut, wenn letzteres freien Ausblick hat. Gegen direktes Sonnenlicht schützt man sich durch einen weißen Vorhang. Das grelle Licht, das man erhält, wenn der Vorhang vom direkten Sonnenlicht getroffen wird, schafft für starke Vergrößerungen die günstigsten Beobachtungsbedingungen; nur suche man alsdann durch einen in entsprechender Höhe vor dem Mikroskop angebrachten Lichtschirm oder einen kleinen, dunklen Vorhang das störende Oberlicht von den Augen abzuhalten. In vielen Fällen, namentlich wenn es sich darum handelt, besonders zarte Objekte oder Schnitte im Tropfen des Einschlußmediums zu richten, lege man die Objektträger auf eine, je nach der Beschaffenheit des Objekts hellere oder dunklere Unterlage. Sehr empfehlenswert sind schwarze und weiße Glasstücke von 10 oder 12 cm im Quadrat, auf deren Oberfläche man zweckmäßig die Konturen der meist benutzten Deckgläser einritzt: beim Ordnen der Objekte wird man so die durch die Größe des Deckglases gegebenen Grenzen nicht überschreiten. Auch die käuflichen schwarzweißen Porzellanplatten lassen sich als Unterlage gut verwenden. Von der Schwarzweiß-Lackierung eines neben dem Mikroskop befindlichen Tischplattenteiles ist aus verschiedenen Gründen abzuraten. Zunächst ist man dadurch beim mikroskopischen Arbeiten an ein und dieselbe Stelle des Tisches gebunden; dann aber wird die weiße Platte leicht schmutzig, und der Lack löst sich in Alkohol, Säuren usw., deren man sich vielfach beim Herstellen der Präparate bedient. Nur bis zu einem bestimmten Grade läßt sich den Übelständen durch Bedecken der lackierten Fläche mit einer durchsichtigen Glasplatte abhelfen.

Künstliche Lichtquellen[1]). Gas- und elektrisches Glühlicht und Bogenlicht geben günstige Lichtquellen für mikroskopische Beobachtungen, wenn zwischen Lichtquelle und Spiegel ein optisches System eingeschaltet wird. Um unter Umständen beim Zeichnen durch die Beleuchtungseinrichtungen nicht gestört zu werden, empfiehlt es sich, sie links vom Mikroskop aufzustellen. Von *Zeiss* wird für 800 M eine Mikroskopier-Gasglühlampe hergestellt. Eine kleine Gasglühlicht-Invertlampe befindet sich auf einem Fuß mit Gestell, das ein als Sammellinse wirkendes Kochkölbchen mit Wasser oder schwach blauer Kupfersulfatlösung trägt und zugleich als Schirm dient. Das Gestell wird so in die Nähe des Mikroskops gestellt, daß durch die Flüssigkeit ein Bild der Lichtquelle auf dem Spiegel entworfen wird (vgl. Fig. 20). Statt des Gasbrenners kann auch eine senkrecht hängende elektrische Glühbirne auf dem Stativ aufmontiert werden (Mikroskopier-Glühlampe für elektrisches Licht, *Zeiss*, Mikro 368; Nr. 139110, ebenfalls für 800 M), wie überhaupt elektrisches Licht wegen der geringeren Wärmeentwicklung und einfacheren Handhabung den Vorzug verdient. Eine ähnliche Lampe ist die *Leitz*sche Mikroskopierlampe Stella. In einem Metallgehäuse findet sich eine 100-Watt-Glühbirne, vor dem Gehäuse ist ein 300 g Wasser fassen-

[1]) Vgl. auch noch Mikroskopierlampe in Reg. IV.

der Glaskolben festgeklemmt. Diese Mikroskopierlampe ist besonders für Dunkelfeld-Untersuchungen zu empfehlen. Sehr geeignet ist auch das *Leitz*sche Mikroskopierlämpchen Mignon, das für auffallende und durchfallende Beleuchtung benutzt werden kann. Auch andere Mikroskopierlampen sind bei *Leitz* zu haben. — Besonders eignen sich für mikroskopische Zwecke die Arbeitslampen der Reinlicht-Werke, München. Von einer elektrischen Glühbirne geht das Licht durch ein mittels bestimmter Metalloxyde gefärbtes Glas; das erzeugte Licht kommt in seiner Zusammensetzung dem Sonnenlicht fast gleich. Es können Solal- und Nivalgläser als Filter gewählt werden, je nachdem man Sonnenlicht oder zerstreutes Tageslicht künstlich erzeugen will.

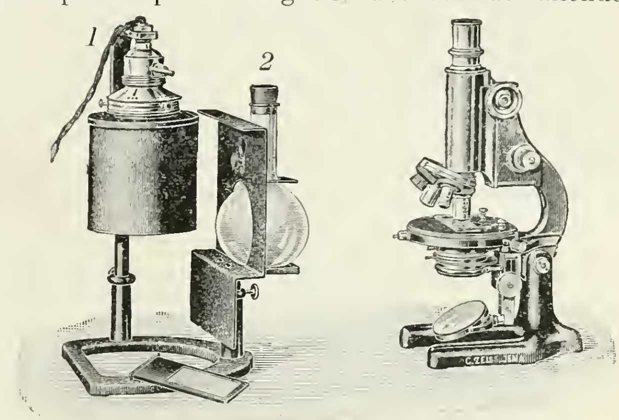


Fig. 20. Beleuchtungseinrichtung nach *C. Zeiss*. *1* Glühlampe, *2* als Sammellinse wirkendes Kölbchen am Gestell.

Alle Arbeitsstehlampen, so auch die in Figur 21 abgebildete, lassen sich für Mikroskopierzwecke verwenden. Am meisten zu empfehlen wären die Ausrüstungen Nr. 150 und 152 mit schwerem Fuß, Patentgelenk, Rundreflektor und Nivalgläsern. Mit Vorteil läßt sich auch die Tammessche Beleuchtungseinrichtung[1]) verwenden. Sie besteht aus einer Glühlampe mit matter Kugel (vgl. Fig. 22), die in einem gußeisernen Gestell von solchen Dimensionen befestigt ist, daß es bei allen Stativen von *Zeiss* und ebensogut bei anderen Mikroskopen bequem benutzt werden kann. Oben ist den Seitenwänden des Gestells eine Messingplatte (*M*) aufgeschraubt, welche die Fassung für die Glühlampe enthält. Durch Lösen der



Fig. 21. Reinlicht-Arbeitslampe ca. $^1/_8$ nat. Größe.

[1]) Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXIX, 1912, S. 82.

Schrauben (S) kann diese Platte mitsamt der Fassung etwas gehoben und seitlich bewegt werden, was beim Auswechseln des Lämpchens von Vorteil ist. Der vorspringende Teil an der Vorderseite (v) des Gestells, in den von oben herab Glasplatten eingeschoben werden können, wird zwischen Fuß und Tisch des Mikroskops gebracht. Für den Gebrauch schiebt man zunächst, und zwar an der dem Mikroskop zugewandten Seite, eine Mattglasplatte ein, die stets gebraucht wird, dahinter je nach Bedarf ein, zwei oder drei blaue Gläser (g). Die vom Mikroskop abgewendete, in der Figur nach vorn gerichtete Seite wird zur Ausschaltung des Lichts der Umgebung durch eine geschwärzte

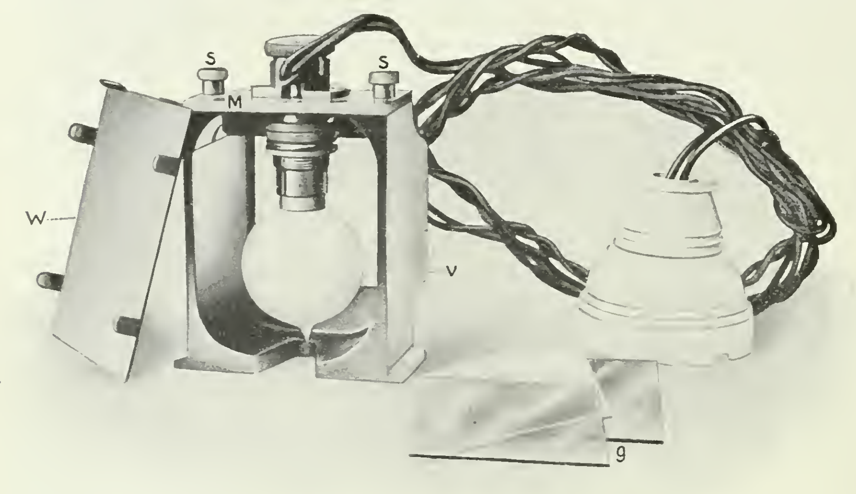


Fig. 22. Elektrische Mikroskopierlampe nach T. Tammes. Erklärung der Buchstaben im Text. Ca. $^1/_2$ nat. Gr.

Kupferwand (W in der Fig. 22, zum besseren Verständnis der Einrichtung abgenommen und an die Seite gestellt) verschlossen. Bei kleineren Mikroskopen ist es notwendig, den Beleuchtungsapparat derart zu drehen, daß der Griff der Irisblende frei bleibt. Der Spiegel des Mikroskops wird fast vertikal gestellt. Für 500—600 fache Vergrößerung genügt eine Lampe von 5 Kerzen. Mit einer solchen von 10 Kerzen und großem Spiegel mit Beleuchtungsapparat kann man selbst bei Anwendung von Immersionssystemen sehr gut arbeiten. Die Lampen werden nach Wunsch für 110 oder auch 220 Volt angefertigt. Man erhält bei richtiger Wahl der blauen Scheiben ein besonders weißes Licht, das dann am meisten ausgenutzt wird, wenn man die Lampe so in der Fassung befestigt, daß die Fläche des Kohlenfadens senkrecht zum Beobachter steht. Derartige Beleuchtungsanlagen werden von der *N. V.^{v}/h. P. J. Kipp u. Zonen*-Delft geliefert und kosten 16,50 holl. fl. — Ganz ähnlich ist die von E. Giltay[1]) empfohlene Einrichtung, bei der eine durch ein kleines Stativ in ihrer Lage gehaltene Osramlampe für 4 Volt Spannung an die Stelle des Mikroskopspiegels gebracht wird. Die Vergrößerung der Lichtquelle bzw.

[1]) Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXV, 1908, S. 166.

die Zerstreuung des Lichtes, das ohne weiteres nicht zu verwenden ist, geschieht durch Mattglas, und zwar am besten dadurch, daß man das Glas der Lampe an der nach oben gewendeten Seite matt machen läßt und ferner noch ein Mattscheibenplättchen auf das Diaphragma im Mikroskoptisch legt. — Die Beleuchtung mit den geschilderten Einrichtungen ist so ausgezeichnet und infolge ihrer Gleichmäßigkeit für das Auge so angenehm, dabei so wenig ermüdend, daß sie, namentlich beim Arbeiten mit starken Vergrößerungen, dem Tageslicht fast vorzuziehen ist. Auch des Abends kann man sie benutzen, muß aber dann gleichzeitig für eine entsprechende Beleuchtung des Zimmers sorgen, weil der Gegensatz zwischen dem hellen Gesichtsfeld des Mikroskops und einer dunklen Umgebung die Augen angreift.

Um in gefärbten Präparaten die mikroskopischen Bilder schärfer hervortreten zu lassen, schaltet man zweckmäßig farbige Gläser oder Gelatinepapierscheiben zwischen Spiegel und Kondensor ein, bzw. legt sie der Irisblende auf. In der Regel erhält man die schärfsten Bilder, wenn man als Farbe der Plättchen die zu der des Präparates komplementäre wählt. So nimmt man bei Safranin-Präparaten am besten grün; die Farbe des Präparates erscheint dann fast schwarz und das Bild ähnlich scharf, wie nach Eisen-Hämatoxylin-Färbung. Bei Methylenblau-Präparaten empfehlen sich rot, gelb, orange. Nach einigem Ausprobieren zeigt es sich, daß man auch mit anderen Farben günstige Resultate erzielen kann[1]).

Bewegliche Objekttische. Es ist oft sehr erwünscht, Präparate, die zahlreiche kleine Objekte oder Strukturen aufweisen, methodisch durchmustern zu können. Dazu dienen dem Tische des Mikroskopstativs aufsetzbare bewegliche Objekttische, die auch Kreuztische genannt werden. Sie sind vornehmlich nach dem Prinzip gebaut, das *C. Reichert*-Wien ausgebildet hat. Durch die Schraubenköpfe *b*, *b'* und *c* läßt sich ein Objektträger, den man zwischen die beiden Arme *a* und *a'* faßte, in zwei zueinander senkrechten Richtungen fortrücken. Die Vor- und Rückwärtsbewegung wird mit der rechten Hand vermittels des Schraubenkopfes *c*, die Querbewegung mit der rechten oder linken Hand an den Schraubenköpfen *b* oder *b'* ausgeführt. Die Triebstange *d* und das Querstück *e e'* vermitteln diese Bewegung. Da dieser bewegliche Objekttisch mit zwei Skalen *f* und *f'* versehen ist, so kann durch Ablesen und Notieren einer jeweiligen Stellung auch ein bestimmter Punkt im Präparat wiedergefunden werden, somit dieser Objekttisch auch als „Finder" dienen. Freilich gelingt dies bei sehr kleinen Objekten mit voller Sicherheit nur, wenn der bewegliche Objekttisch mit dem Objekttisch des Stativs verbunden blieb, nicht, wenn man ihn abnahm und wieder aufsetzte; doch soll die Skala *f''*, welche die Stellung des Armes *a* angibt, dazu dienen, die frühere Lage auf dem Objekttisch des Stativs auch beim Wiederaufsetzen des beweglichen Objekttisches aufzufinden. Dazu verhilft auch das Grübchen, das die Fixierungsschraube *i* bei stärkerem Anziehen in der Säule des Stativs bildet. Dieser bewegliche Objekttisch gestattet es, den Objektträger seitlich um annähernd 25 mm zu bewegen; von vorn nach hinten verfügt man über ca. 28 mm, doch gehen von dieser Strecke einige Millimeter verloren, falls man mit

[1]) Nach S. TSUNEJI, Münch. med. Wochenschr., L. Jahrg., 1903, S. 327.

Objektiven arbeitet, die früher schon gegen das Querstück *e e'* anstoßen. Präparate, deren Größe sich innerhalb der genannten Grenzen hält, können ganz durchmustert werden; für diese leistet der *Reichert*sche Objekttisch sehr gute Dienste. Der bewegliche Objektführer (Nr. 105 des *Reichert*schen Kataloges) ist an allen mittleren Stativen, deren Tische eine Dicke von 7—20 mm und eine Größe von 80—130 mm (rund oder viereckig) besitzen, zu verwenden. Die Bewegung beträgt 50 mm seitlicher Richtung und 30 mm in der Richtung von vorne nach hinten. Beide Bewegungen sind mittels Zahn und Trieb ausführbar und gestatten eine Ablesung von 0,1 mm. Der Preis beträgt 2680 M. Für umfangreichere Präparate sind bewegliche Objekttische notwendig, die über größere Strecken geführt werden können. Bei dem beweglichen Objekttisch von *Zeiss* (Nr. 12 08 00, Preis 3400 M, Behälter 200 M), beträgt die seitliche Bewegung 50 mm, die von vorn nach hinten 30 mm. — Für die großen Stative konstruieren *Reichert* und *Zeiss* größere bewegliche Objekttische, welche an Stelle der Hartgummi- und Metalltische am Stativ anzubringen sind und um die optische Achse des Instrumentes gedreht werden können. Bei *Reichert* wie bei *Zeiss* werden diese Objekttische (Nr. 100 des *Reichert*schen, Nr. 12 06 80 des *Zeiss*schen Katalogs) mit 4000 M berechnet. Die Konstruktion dieser beweglichen Objekttische ist im Prinzip jener der kleineren ähnlich. Der große Kreuztisch von *Zeiss* läßt sich in Verbindung mit einer Zentriervorrichtung an den Stativen I und B anbringen. Die Verschiebungen der Präparate, die mit dem Tisch auszuführen sind, können an zwei Millimeterskalen mittels der Nonien I und III (vgl. Fig. 24) abgelesen werden. Wenn man nun vor der Beobachtung den Tisch genau zentriert und sodann die für bestimmte Präparatstellen gemachten Ablesungen notiert, so ist man später jederzeit in der Lage, die betreffenden Stellen wieder aufzufinden. Bedingung hierfür ist nur, daß der Tisch vorher stets wieder genau zentriert wird. Um diese Zentrierung rasch und sicher zu ermöglichen, ist noch eine dritte Skala mit dem Nonius II (vgl. Fig. 24) angebracht und wird jedem großen Kreuztisch, der an einem Stativ I, III, B oder IV verwendet wird, ein sog. Zentrierglas (Objektträger mit Diamantstrichkreuz) beigegeben. Auf seiner Etikette werden die Stellungen für die Nullpunkte der drei Nonien I, II, III

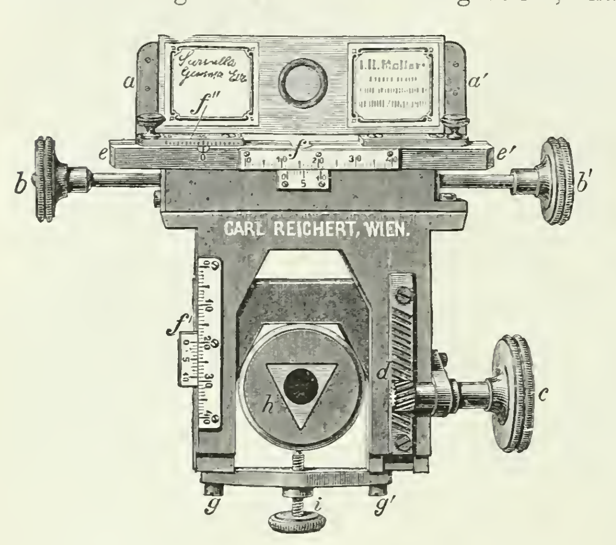


Fig. 23. Beweglicher Objekttisch von *C. Reichert*, $^{1}/_{2}$ nat. Größe. Erklärung der Buchstaben im Text.

angegeben, bei welchen das Zentrierglas zur Ausführung der Zentrierung richtig liegt. Nachdem man auf Grund dieser Angaben die richtige Einstellung der drei Nonien durch Bewegung der Schlitten und Verschieben des als Anschlag dienenden linken Halters bewirkt hat, fixiert man diesen Halter durch Anziehen der an ihm befindlichen Schraube. Sodann legt man das Zentrierglas so auf den Tisch, wie es in der Figur dargestellt ist und bewegt nunmehr mittels der Zentrierschrauben (in der Figur nicht abgebildet) den ganzen Tisch so lange, bis die Mitte des Strichkreuzes mit der Mitte des Gesichtsfeldes zusammenfällt. Ist dies erreicht, so ist der Tisch in bezug auf

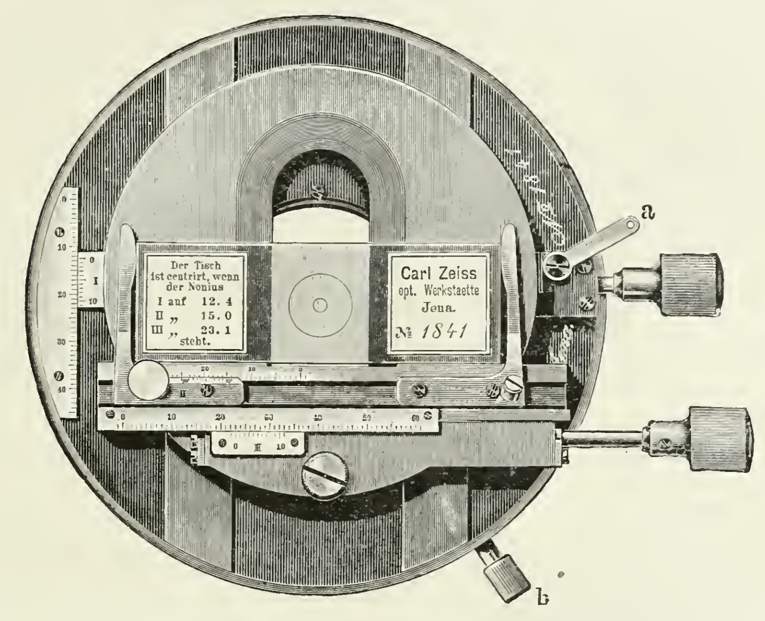


Fig. 24. Großer Kreuztisch Nr. 12 06 80 von *Zeiss* mit Zentrierglas. *a* Bügel zum Festklemmen des unteren Schlittens, *b* Klemmschraube für die Arretierung der Drehbewegung. $^2/_3$ nat. Größe.

das angewandte Objektiv annähernd zentriert, d. h. die Drehungsachse des Tisches fällt ungefähr mit der optischen Achse des Objektivs zusammen. Mit leichter Mühe wird man nötigenfalls durch geringe Bewegungen der Zentrierschrauben die Zentrierung vollständig machen. — Die Anwendung eines Strichkreuz-Okulars, d. h. eines Okulars, dem ein Strichkreuz-Glasplättchen eingefügt ist (Erhöhung des Okularpreises dadurch um 172 M), ist bei der Ausführung der Zentrierung sehr zu empfehlen. Mit Hilfe eines solchen Okulars läßt sich das Zusammentreffen der Mitte des Gesichtsfeldes und der Mitte des auf dem Zentrierglase befindlichen Strichkreuzes auf das genaueste feststellen. Ähnliche bewegliche Objekttische wie die zuvor genannten sind auch von *Leitz* (Nr. 136—141 des Katalogs für mikr. Nebenapparate) für 2700—3200 M zu beziehen. Bewegliche Objekttische mehr oder weniger abweichender Konstruktion, werden auch von anderen optischen Anstalten geliefert. Einen solchen beweglichen

Objektführapparat, welcher auf jedem Stativ angebracht werden kann — einerlei ob viereckiger, runder oder drehbarer Tisch — liefert *Winkel* zum Preise von 3200 M ohne und 3400 M mit Etui. Er gestattet Bewegungen in der Längsrichtung von 50 und in der Querrichtung von 30 mm. Nach den Angaben von ARTHUR MEYER ist endlich noch ein einfacher beweglicher Objekttisch, „Suchtisch" genannt, von *Seibert* konstruiert worden, der sich besonders zum vollkommenen Durchmustern von Pflanzenpulver-Präparaten eignet. Preis 1440 M[1]). Vollkommener und für beliebige Mikroskope und Linsenkombinationen passend, ist der ebenfalls auf ARTHUR MEYERS Veranlassung[2]) von *Seibert* gebaute Suchtisch (Perquirator) Katalog 39, 1915, Nr. 77, im Etui zum Preise von 4000 M. Er schließt sich in seiner Konstruktion an den *Leitz*schen „Kreuztisch mit automatischer Einstellung" an.

O b j e k t t r ä g e r u n d D e c k g l ä s e r. Die notwendigen Objektträger und Deckgläser, evtl. auch andere Glasgegenstände und Utensilien bezieht man von *Heinrich Vogel*-Gießen, Dr. *Alfr. Schröter*-Leipzig-Connewitz, *P. Stender*-Leipzig, den *Vereinigten Lausitzer Glaswerken*-Berlin SO 36, *C. Gerhardt*-Bonn, Dr. *Grübler & Co.*-Leipzig, auch von *C. Zeiss*-Jena, *E. Leitz*-Wetzlar, und den meisten anderen optischen Werkstätten. Man hat bei den Objektträgern die Wahl zu treffen zwischen dem Gießener und dem englischen Format. Die Objektträger im Gießener Format sind 48 mm lang und 28 mm breit; die Objektträger im englischen Format sind 76 mm lang und 26 mm breit. Das Gießener Format gewährt insofern Vorteile, als der Objektträger über den Objekttisch des Mikroskops nicht hinausragt, und somit die Gefahr nicht vorhanden ist, ihn anzustoßen. Das englische Format ist andererseits handlicher.

Statt gläserner Objektträger ist, namentlich, wenn es sich um zahlreiche Serienschnitte großer Objekte handelt, farbwiderstandsfähiges N a t u r p a u s p a p i e r (von *Dr. Grübler & Co.*-Leipzig zu beziehen) empfohlen worden[3]), das neben der Billigkeit noch darin Vorteile hat, daß es leicht ist, ferner sich in jeder beliebigen Größe und jedem Format mit der Schere zurechtschneiden läßt. Bei Durchtränkung mit Harz wird es in hohem Maße durchsichtig; das Strukturbild der Fasern verschwindet fast vollständig und liegt außerdem in einer anderen Einstellungsebene als der Schnitt. (Vgl. auch S. 78 und Reg. IV unter Pauspapier.)

Die Deckgläser wählt man für die gewöhnliche Beobachtung quadratisch (18×18 mm); für große Objekte und Schnittserien muß man größere (etwa 24×32 mm), für sehr kleine Objekte entsprechende Deckgläser bereit halten. Für die starken Systeme wird man gut tun, sich Deckgläser von der auf Seite 12 angegebenen Dicke zu bestellen. — Objektträger wie Deckgläser müssen aus einem relativ kalkreichen Glas bestehen. Gutes Glas vermag man von schlechtem mit der Zeit zu unterscheiden. Nach monatelangem Liegen in einem geschlossenen

---

[1]) A. MEYER, Die Grundlagen und Methoden für die mikrosk. Untersuchung von Pflanzenpulvern, 1901, S. 246. Dort auch die Gebrauchsanweisung.

[2]) A. MEYER, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXVI, 1909, S. 80.

[3]) Vgl. A. SCHOENEMANN, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XIX, 1902, S. 150 und 335; ferner H. STRASSER, ebenda, S. 337.

Schrank zeigt sich das gute, für mikroskopische Zwecke allein brauchbare Glas unverändert, während das schlechte hauchartig beschlagen ist[1]). Am besten halten sich die Deckgläser klar, wenn man sie in 2—3-proz. Sodalösung kocht, in Wasser abspült und in Alkohol aufbewahrt. Für sehr feine Untersuchungen verwendet man Deckgläser, die in einer gesätt. Chromsäurelösung in konz. Schwefelsäure gekocht und mit Aq. dest. abgespült worden sind.

Als Ersatz für die, namentlich bei bedeutenderer Größe, verhältnismäßig teueren Deckgläser kann in manchen Fällen, besonders dann, wenn es sich nicht um jahrelanges Aufbewahren von Präparaten handelt, entsprechend zugeschnittenes Gelatinepapier dienen[2]). Allerdings darf das Medium, worin das Präparat eingeschlossen wird, nicht wasser- oder glyzerinhaltig sein. Wasser, Glyzerin, wässr. Säuren und Alkalien lösen die Gelatine, während sie in Alk. abs., in Äther, Chloroform, Xylol, Benzin, fetten und ätherischen Ölen unlöslich ist. Für Bedeckung von Xylol-Kanadabalsam läßt sich das Gelatinepapier besonders empfehlen. Da seine optischen Verhältnisse denen des Glases nahestehen, so kann man an solchen Präparaten selbst Untersuchungen mit Öl-Immersion anstellen. Nachteilig wirken Wärme und Feuchtigkeit auf die Gelatineplättchen ein, weil sie Faltenbildung veranlassen. Durch leichtes Abreiben mit Xylol oder Benzin können die Gelatineplättchen gereinigt werden. Da die Beschaffung der Gelatineplättchen zur Zeit Schwierigkeiten bereitet, empfiehlt Dr. *G. Grübler & Co.* Gelatinelösung oder Negativlack nach Weigert zu verwenden.

Andere Utensilien. Weiter sind notwendig einige flach und einige hohl geschliffene Rasiermesser, auch solche, die eine flache und eine hohle Seite aufweisen. Die hohle Seite wird beim Schneiden nach oben gekehrt. Derartige Rasiermesser sind zum Preise von 120 M im besonderen von *W. Walb Nachf.*-Heidelberg oder *R. Jung*-Heidelberg zu beziehen. Auch sind unentbehrlich einige feine und grobe Stahlpinzetten, eine zugespitzte Präparierschere, als welche eine feine Stickschere evtl. dienen kann; einige Nadelhalter, die so eingerichtet sind, daß sie die feinsten Nähnadeln noch fassen können; Nähnadeln verschiedener Stärke für diese Halter; einige Skalpelle; Präparierschäufelchen von Platin; einige feine Pinsel; ein kleiner Handschraubstock; Glasröhren und Glasstäbe; einige Pipetten; Gläschen mit eingeschliffenen, durch Gummihütchen abgeschlossenen Pipetten; Tropfflaschen und Glaszylinder verschiedener Größe für Farblösungen und dergl.; Uhrgläser verschiedener Größe und entsprechend große Glasscheiben zu ihrer Bedeckung; Präparatenschalen mit rundem Glasdeckel; Glasglocken, sogenannte Käseglocken, um Objekte vor Staub zu schützen und auch um feuchte Kammern einzurichten, in welchen kleine Gestelle aus Glas oder Zink (Fig. 61, S. 103) zur Aufnahme von Präparaten untergebracht werden; zwei entsprechend hohe Glasglocken oder Pappkästen bzw. Papptrommeln, um das zusammengesetzte und das einfache Mikroskop zu decken; endlich Holundermark und Korkstopfen.

[1]) E. WEBER, Fortschritte der Medizin, Bd. XI, 1893, S. 49.

[2]) V. PRANTER, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XVIII, 1901, S. 159 und S. TSUNEJI, Münch. med. Wochenschr., Jahrg. L, 1903, S. 327.

Luftpumpen. Erwünscht ist auch oft zur Entfernung der Luft aus den Präparaten eine Luftpumpe.

Vornehmlich zu empfehlen wären die Wasserstrahlluftpumpen. Solche in einfacher Konstruktion aus Glas sind bei *C. Gerhardt*-Bonn und auch in anderen Lagern chemischer und physikalischer Utensilien zu haben. Zu empfehlen ist die Konstruktion Fig. 25 (*Gerhardts* Preisverzeichnis 1914, Nr. 3300; Preis 45 M). Das obere Ende dieser Wasserstrahlluftpumpen wird durch einen gut anschließenden, starkwandigen Gummischlauch mit dem Hahn der Wasserleitung, das seitlich angebrachte Rohr in derselben Weise mit dem Rezipienten verbunden. Zur Evakuierung kleiner

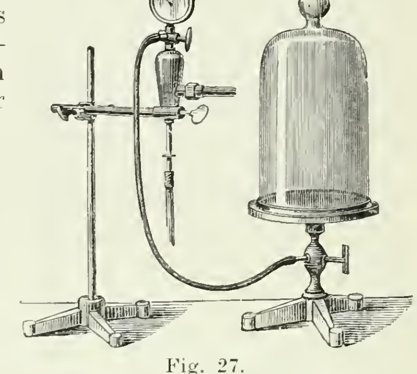


Fig. 25. Fig. 26. Fig. 27.

Wasserstrahlluftpumpen.

Räume reichen 5—7 Min. aus. Sehr vollkommen und rasch arbeitet die Wasserstrahlluftpumpe nach Arzberger und Zulkowsky, wie sie in der Fig. 27 links dargestellt ist. Sie ist von Messing, braun oxydiert und kostet bei *C. Gerhardt* (Katalog 1914, Nr. 3325 bzw. 3326) ohne Vakuummeter 750 M, mit Vakuummeter (wie in der Figur) 1080 M; dazu kommt noch ein Stativ von Eisen (vgl. die Figur) zum Halten der Pumpe, 150 M. Ihr höher gelegenes, seitliches Rohr wird durch starken Gummischlauch mit dem Rezipienten, ihr tiefer gelegenes mit dem Hahn der Wasserleitung verbunden. Der Rezipient, auch bei der ersten, einfachsten Wasserstrahlluftpumpe notwendig, besteht (in der Abbildung rechts) aus dem Luftpumpenteller mit Glocke auf Untergestell mit Hahn und Dreifuß und kostet bei *C. Gerhardt* (Preisverzeichnis 1914, Nr. 3335), bei 20 cm Durchmesser des Tellers, 625 M, ohne Glocke 525 M. — Man kann hier übrigens auch viel einfacher zum Ziele kommen, wenn man statt dieses Rezipienten eine tubulierte, am unteren Rande glatt geschliffene Glocke einer Glasplatte aufsetzt und den Tubus der Glocke hierauf durch Gummischlauch mit der Wasserstrahlluftpumpe in Verbindung bringt. Des besseren Abschlusses wegen wird der untere Rand der Glocke mit Talg oder Schweinefett bestrichen. Gleiche Dienste leistet auch ein einfacher Exsiccator mit Tubusansatz (Preis etwa 120 M) in Verbindung mit einer Wasserstrahlluftpumpe. — Wo eine Wasserleitung nicht zur Verfügung steht, kommen gewöhnliche einstiefelige Luftpumpen im Preise von 1000 M in Betracht oder die weniger dem Verderben ausgesetzten und bequemeren, freilich auch teureren Quecksilberluftpumpen. — Bei allen solchen mit dem Rezipienten in Verbindung zu bringenden Luftpumpen ist der Vorteil gegeben, daß das Präparat auf dem Objektträger bleibt.

R e a g e n t i e n. Die notwendigsten Reagentien sind am Schlusse dieses Buches in Register III nachzusehen.

P r ä p a r a t e n k ä s t e n. Zur Aufbewahrung der mikroskopischen Dauerpräparate sind die verschiedensten Präparatenkästen empfohlen worden. Solche werden bei *Dr. Alfred Schröter*-Leipzig-Connewitz in verschiedenen Formen hergestellt. Ganz besonders beliebt und verbreitet sind die flachen Präparatenmappen aus Naturpappe (Fig. 28). Die Präparate kommen in ihnen flach auf einen mit weißem Glanzpapier überzogenenUntergrund zu liegen, über den zwei flach vorgewölbte Deckel geklappt werden. Diese Präparatenmappen werden meist für 20 Präparate des englischen Formats mit und ohne Verschluß geliefert. Vielfach im Gebrauch sind auch die Präparatenkästen in Buch- oder Etui-Form, in welchen die Objektträger, auf die Längskante gestellt und seitlich von Holzzahnleisten festgehalten, aufbewahrt werden können (Fig. 29). Sie sind ein- oder doppelseitig zu öffnen; die einseitig zu öffnenden sind besonders beliebt. Verschluß durch Messinghäkchen bzw. Schnappschlößchen. Die Zahnleisten sind bei den größeren Kästen numeriert und, in den Deckel eingeklebt oder auch freiliegend, ist ein mit gleicher Numerierung versehenes Inhaltsverzeichnis beigegeben. Namentlich für größere Sammlungen und den Transport sind solche Kästen, in welche die Präparate erst gebracht werden dürfen, wenn das Einschlußmedium wenigstens oberflächlich fest geworden ist, sehr geeignet. Sie werden nach *Dr. Schröters* Liste Nr. 42, Fig. B, C, H, I, K, L zur Aufnahme von 50 bis 450 Präparaten hergestellt und kosten je nach Größe und Ausstattung 22,50 bis 180 M. Sehr schön sind ferner aus Holz gearbeitete Kästchen, die *H. Vogel*-Gießen liefert. *Leitz*-Berlin liefert: Präparatenmappen, -tafeln, -kartons, -kästen und -schränke in verschiedenen Ausführungen.

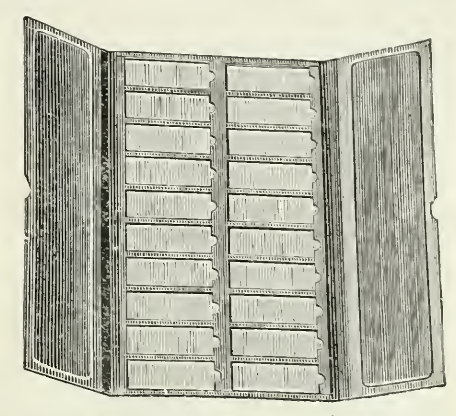


Fig. 28. Präparaten-Mappe von Dr. *Schröter* für 20 Präparate in englischem Format.

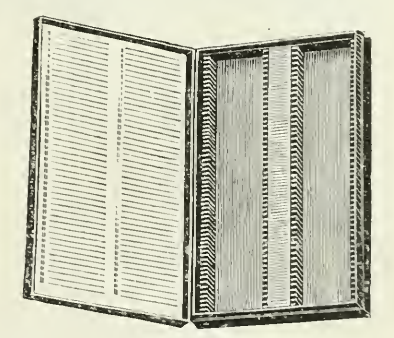


Fig. 29. Präparatenkasten in Etuiform von Dr. *Schröter* für 100 Präparate in englischem Format.

M i k r o t o m e u n d d i e m i k r o t o m i s c h e T e c h n i k. Während früher die mikroskopischen Präparate fast nur aus freier Hand geschnitten wurden, von Mikrotomen allenfalls nur einfache Handmikrotome in Benutzung kamen, ist jetzt das zusammengesetzte Mikrotom in jedem Institut zu finden. Die Kenntnis seiner Handhabung muß auch jeder erlangen, der auf histologischen Gebieten mit

Erfolg arbeiten will. Die Zahl guter Mikrotome, die von verschiedenen Mechanikern hergestellt werden, ist sehr groß. Die meisten fanden ihre Anhänger; tatsächlich wird man oft geneigt sein, dasjenige Mikrotom für das beste zu halten, an das man gewöhnt ist. In ihrer Konstruktion unterscheiden sich die verschiedenen Mikrotome, die jetzt benutzt werden, dadurch voneinander, daß bei den einen das Messer und das zu schneidende Objekt auf annähernd horizontalen Schlittenbahnen sich bewegen, bei den anderen eine horizontale Bahn für das Messer, eine senkrechte für das Objekt vorhanden ist; bei noch anderen end-

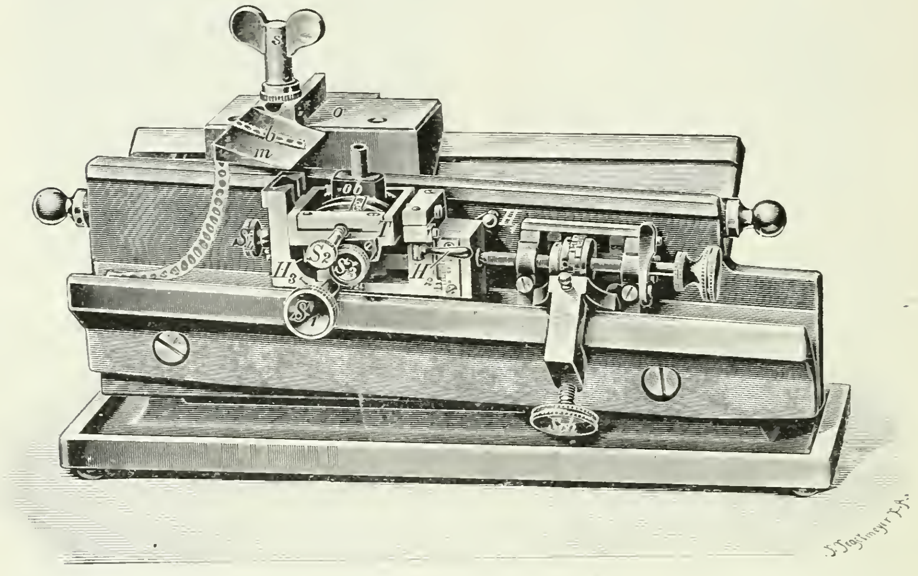


Fig. 30. *Thoma-Jung*sches Schlittenmikrotom mit Ausrüstung. Erklärung der Buchstaben im Text.

lich ist das Messer feststehend, und das Objekt wird gegen dieses geführt.

Wir benutzen seit Jahren die THOMA-JUNGschen Schlittenmikrotome von *R. Jung*-Heidelberg, und finden, daß sie bis jetzt allen Anforderungen entsprachen, die wir an sie stellten. Diese Mikrotome arbeiten nicht so rasch, wie manche andere, werden aber in Hinsicht auf die Sicherheit der Leistung und die Gleichmäßigkeit in der Dicke der aufeinander folgenden Schnitte kaum von anderen übertroffen. Wir wollen daher unsere Angaben über Bau und Benutzung der Mikrotome an die Schilderung eines JUNGschen Mikrotoms knüpfen, im übrigen aber auch auf andere Mikrotome hinweisen und deren Bezugsquellen nennen.

Das THOMA-JUNGsche Schlittenmikrotom[1]), das wir benutzen (Fig. 30), zeigt am Gestell zu beiden Seiten einer senkrecht stehenden Mittelplatte je eine 27 cm lange Schlittenbahn. Die höher gelegene Messerbahn ist wagerecht, die tiefer gelegene Objektbahn steigt langsam an.

[1]) Jetzt wird ein ähnliches Mikrotom — Nr. 61, Größe II des *Jung*schen Preisverzeichnisses (Ausgabe 31) — zum Preise von 9200 M geliefert.

Der schwere Schlitten (*O*), der auf fünf Laufpunkten in der oberen Bahn gleitet, nimmt das Messer (*m*) auf, das mit einer Schraube (*s*) festgeklemmt wird. Auf der unteren Bahn gleitet ein Schlitten, in dem der Objektträger (*T*) vermittels der Schraube S_1 durch Zahn und Trieb auf- und abwärts bewegt werden kann. Der Objektträger wird in der gewünschten Höhe durch den Hebel H_1 fixiert; zum Festhalten des Objekts (*ob*) dient die durch die Schraube S_2 bewegliche Klammer (*kl*). Um die vertikale Stellung des Objekts möglichst variieren und dabei das Objekt in seiner veränderten Stellung festhalten zu können, sind an dem Schlitten die beiden Schrauben S_3 und S_4 sowie die Hebel H_2 und H_3 angebracht. Die mit geteilter Trommel versehene Mikrometerschraube ist in der unteren Bahn durch die Klammer *Sch* fixiert. Ihre Spitze berührt den Objektschlitten, der durch jede Vorwärtsdrehung der Mikrometerschraube fortbewegt wird. Die Teilungen an der Schraube gestatten, Bewegungen des Objektschlittens auf der schiefen Ebene zu veranlassen, die einer Hebung desselben um 0,001 mm entsprechen. Durch eine besondere Vorrichtung werden die erwünschten, zuvor eingestellten Bewegungen der Schraube, und zwar von 1—15 Tausendstel Millimeter, mit Anschlag angegeben. Zum Schneiden benutzen wir die Mikrotommesser nach Henking (Fig. 31) mit 6 cm Angel- und 6 cm Schnittlänge, deren untere Seite plan, die obere konkav geschliffen ist. Weiche Objekte schneiden wir mit Messern, deren Oberseite möglichst konkav geschliffen, deren Klinge also besonders dünn ist; beim Schneiden härterer Objekte wenden wir jedoch weniger konkav, also auch weniger dünn geschliffene Messer an. Da die Angel am Messer eine Verschiebung seiner Befestigungsstelle gestattet, so können verschiedene Stellen der Schneide nacheinander zur Verwendung kommen.

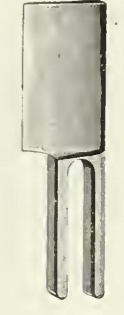
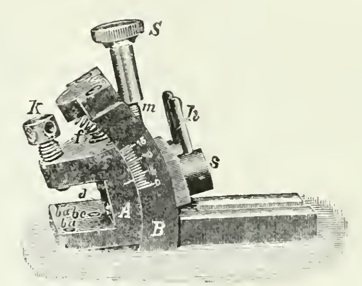
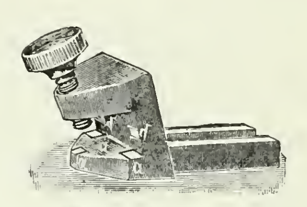


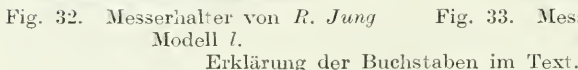
Fig. 31. Mikrotommesser nach Henking.

Am meisten werden die Mikrotommesser nach *Jung* & *Löw* verwendet; sie bieten den Messern nach Henking, Thoma und Weigert gegenüber Vorteile. Die Messer nach *Jung* bzw. *Löw* kosten bei 12 cm Schneidelänge 460 M (Katalog von *Jung*, Ausgabe 31, Nr. 201 bis 207); sie bleiben in einem Messerhalter eingespannt, der es ermöglicht, alle Stellen des Messers auszunutzen. Die Messer nach Thoma, die auch vielfach Verwendung finden, sind bei *Walb*-Heidelberg für 442 M zu erhalten. Während bei senkrechter Stellung des Messers zur Objektbahn die aufeinander folgenden Schnitte mit ihrem Rande zusammenstoßen, aneinander haften bleiben und so ein zusammenhängendes Band bilden (*b* in Fig. 30), erhält man bei Schrägstellung des Messers nur Einzelschnitte. Selbstverständlich muß das Mikrotom möglichst rein gehalten werden, da jedes Schmutzteilchen meßbare Dicke besitzt. Zur Einfettung der Schlittenbahn darf man nur das beste säurefreie Knochenöl verwenden. Das Thoma-Jungsche Schlittenmikrotom wird von *Jung* auf Wunsch so eingerichtet, daß die Bewegung des Messerschlittens nicht aus freier Hand, sondern durch Kurbel und Saite erfolgt. Diese Einrichtung kostet 2070 M. Aber nur für Zelloidinpräparate ist diese Einrichtung zu empfehlen.

Es werden von *Jung*-Heidelberg u. a. solche Messerhalter hergestellt, die es ermöglichen, die Neigung des Messers zu verändern[1]). Dies muß geschehen, sobald man merkt, daß die Schnitte ungleich dick ausfallen. Die Änderung des Neigungswinkels des Messers zur Horizontalen erfolgt dabei, ohne daß die Messerschneide selbst sich in beträchtlichem Maße hebt oder senkt. Die Messerschneide bildet vielmehr bei Messern von normaler Breite die Achse, um die sich die Klammer des Halters dreht. In Fig. 32 ist ein großer Messerhalter solcher Konstruktion (Modell *l*, Nr. 207 des Jungschen Katalogs) dargestellt. Dieser Halter besteht aus zwei Hauptteilen *A* und *B*. Der Teil *B* besitzt auf der einen Seite, in der Figur rechts, eine Gabel zum Aufspannen auf den Messerschlitten. Der Teil *A* wird durch die Schrauben *s* an dem Teil *B* festgehalten. In ihm wird das Messer befestigt. Der Spalt, in welchen das Messer eingeschoben wird, ist tief genug, um ein solches von 34 mm Breite aufzunehmen. Um auch schmälere Messer einspannen zu können, sind die beiden Schräubchen *d* angebracht, welche etwa 5 mm hervorgeschraubt werden können. Die Breite des Spaltes gestattet es anderseits, selbst Messer von über 10 mm Rückendicke zu verwenden. Durch Hervordrehen der drei Basalschrauben *ba*, *ba* und *bc* wird die Möglichkeit gegeben, auch dünnere Messer, z. B. Rasiermesser einzuspannen. Die Schraube *k* dient zum Festklemmen des Messers. Nach Lockerung der beiden mit Hebeln *h* versehenen Klemmschrauben *s* kann man durch die Schraube *Sm* das eingespannte Messer neigen. An der Gradteilung ist abzulesen, ob die Neigung das gewünschte Maß erreicht hat. Dann werden die Klemmschrauben wieder angezogen. Die Basalschrauben können gelegentlich auch noch dazu dienen, die Neigung des Messers zu verändern, die untere, angeschliffene Facette der Schneide horizontal zu richten, schließlich die Schneide der Länge nach genau horizontal zu stellen. Preis dieses Messerhalters 1196 M. In einem anderen, einfacheren von *Jung* angefertigten Halter (Modell *g*, Nr. 201, 203; vgl. Fig. 33) ruht die plane Unterfläche des eingespannten Messers auf drei Plättchen, *a*, *a*, *a* und erhält zugleich eine Neigung von 8° nach unten, welche sich auf ca. 12° beim Verkehrt-Einspannen des






Fig. 32. Messerhalter von *R. Jung* Modell *l*. Fig. 33. Messerhalter von *R. Jung* Modell *g*.
Erklärung der Buchstaben im Text.

[1]) Vgl. P. Mayer und E. Schoebel, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XVI, 1899, S. 29, und die „Beschreibung der neuen Messerhalter a. d. Werkstätte von *R. Jung*, Heidelberg“.

Messers erhöht. Diese Stellungen genügen in den meisten Fällen. Auch hier wird das Messer mit einer Schraube festgeklemmt, wobei der Rücken des Messers dem Halter nur an zwei Punkten *d*, *d* anliegt. Preis 391 M bzw. 276 M.

Sowohl bei Verwendung von Messerhaltern, als auch bei unmittelbarer Befestigung des Messers am Messerschlitten (wie in Fig. 30) läßt sich eine Hebung des Messers durch Unterlegen planparalleler Platten erreichen. (Ein Satz, bestehend aus drei solchen Platten verschiedener Dicke, wird von *Jung* [Nr. 210] mit 69 M berechnet.) — Da es sich meist um das Schneiden von Objekten handelt, die in Paraffin eingebettet sind, und größere Paraffinschnitte bei so geringer Dicke sich leicht rollen, so hat man Schnittstrecker konstruiert, die ein solches Einrollen verhinderen sollen. Im besonderen wird der Schnittstrecker von P. Mayer gebraucht (Nr. 212 des *Jung*schen Katalogs, Preis 552 M), dessen Hauptbestandteil ein Stab bildet, der dem Messerrande folgend, über ihn und seinen halben Querschnitt hinausragen muß. Dieser Stab kann durch Schrauben parallel dem Messerrand gerichtet werden und verhindert das Einrollen der unter ihm weg, auf der Messerfläche gleitenden Schnitte. Ein solcher Schnittstrecker kommt im wesentlichen nur für ausgedehntere Schnitte in Betracht und dürfte für botanische Objekte nur ausnahmsweise Verwendung finden. Wir möchten auch noch auf den so praktischen, kleinen Schnittbandführer (*Jung*scher Katalog, Ausgabe 31, Nr. 213) hinweisen.

Außer dem vorhin geschilderten Thoma-Jungschen Schlittenmikrotom hat sich in den letzten Jahren noch manches andere Modell eingebürgert. So das neue Heidelberger Schlittenmikrotom H von *Jung* (Katalog-Ausgabe 31 von 1913, Nr. 81—109), welches sich von dem Thoma-Jungschen in der Hauptsache dadurch unterscheidet, daß der Objekthalter, der zum Richten des Objekts mit zwei Schrauben versehen ist, nicht durch seitliche Verschiebung auf schiefer Ebene, sondern senkrecht gehoben wird. Namentlich das kleine Modell H 5 mit 21 cm langer Schlittenbahn (Katalog 1913, Nr. 105 a; mit zwei Messern und allen Nebenapparaten 5750 M) ist — auch als Reisemikrotom — sehr beliebt. Besonders geeignet sind auch die von *Leitz*-Wetzlar angefertigten Mikrotome. Von ihnen seien das „Neue verbesserte Handschlittenmikrotom“, die verschiedenen Modelle des Großen Schlittenmikrotoms, das Kleine Schlittenmikrotom und das Rotations-Mikrotom erwähnt (*Leitz*, Katalog 48F, 1922).

In Amerika benutzt man besonders das Minotsche Mikrotom (Fig. 34); aber auch in Deutschland wird es vielfach gebraucht. Das zu schneidende Objekt wird an ihm durch ein Antriebsrad gegen das stehende, in beliebige Lage einstellbare Messer bewegt. Es arbeitet sehr rasch und gestattet leicht die Herstellung sehr langer Schnittbänder. Das Antriebrad versetzt den an dem Prisma *A* gleitenden Vertikalschlitten *S* in auf- und absteigende Bewegung. Dieser Vertikalschlitten trägt einen horizontalen Schlitten, der durch eine mit dem Zahnrad *B* verbundene Mikrometerschraube bewegt wird. Vorn trägt der horizontale Schlitten den um drei Achsen beweglichen Objekthalter mit der zum Aufkitten des Präparates dienenden Platte *P*. Letztere rückt nach jeder Umdrehung der Kurbel automatisch um

die zuvor eingestellte Strecke nach vorn. Das Schnittband hängt frei herab, oder kann vermittels einer besonderen Bandführung fortbewegt werden. Dieses Mikrotom stellen u. a. *Leitz*-Wetzlar und *Bausch* & *Lomb*-Rochester her. Ein auf gleichem Prinzip beruhendes Mikrotom[1]) ist von *Zimmermann*-Leipzig für 7600 M zu beziehen.

Auf Veranlassung von M. Wolff[2]) fertigt *E. Zimmermann* noch ein ähnliches, aber einfacher gebautes, kleines, leichtes Mikrotom (Nr. 21) an, das selbst für die feinsten histologischen Arbeiten als Paraffin- und Gefriermikrotom vollkommen ausreicht. Es kostet gebrauchsfertig (mit Messer) für die Paraffinmethode ausgerüstet, in einem nach Art der Mikro-

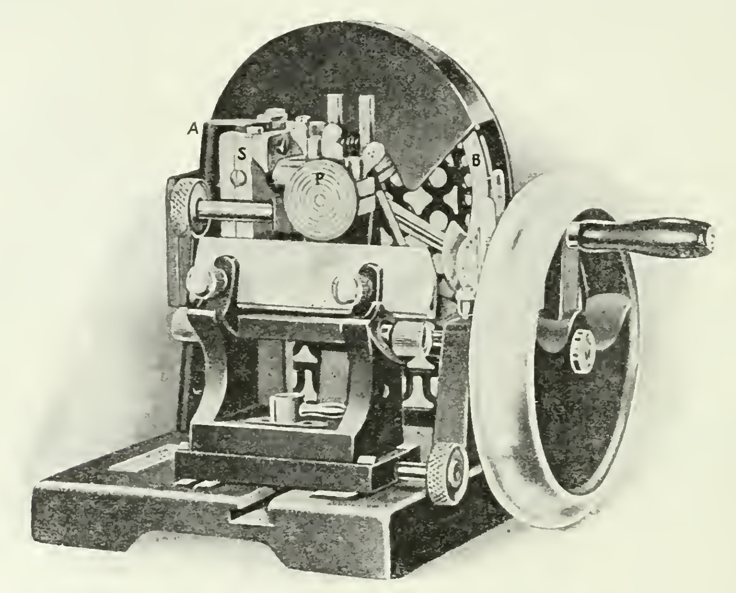


Fig. 34. Das Minotsche Mikrotom. Erklärung der Buchstaben im Text.

skopkasten mit Tragbügel versehenem Schränkchen 3600 M, mit Chloräthylgefrierkammer und einer Flasche Chloräthyl, also für Paraffin- und Gefriermethode ausgerüstet, 4000 M. Es wird mit einer Klemme an den Tisch geschraubt. Mit ihm lassen sich Serien von 5, 10, 15, 20, 25 und 30 μ dicken und $3 \times 2{,}5$ cm großen Schnitten herstellen. Die Maße des Schränkchens, in dem das Mikrotom nach Abnehmen der Kurbel durch die Tischklemme befestigt werden kann, und das die gesamte Ausrüstung aufzunehmen vermag, betragen $18 \times 19 \times 18$ cm. Da zudem das Nettogewicht des Instruments trotz seiner außerordentlich kräftigen Konstruktion mit vollkommener Ausrüstung inkl. Schränkchen nur ca. $5\,^1/_2$ kg beträgt, so ist es als Reisemikrotom sehr zu empfehlen.

In England sind die Schaukelmikrotome „Cambridge rocking microtomes“ vielfach im Gebrauch. Ein nach Angabe der zoologischen Station in Neapel verbessertes Modell liefert *Jung*-Heidelberg (Preisverzeichnis Nr. 131) für 6210 M. Ein Messer zu diesem Mikrotom

[1]) Beschreibung dieses Mikrotoms wird vom Verfertiger auf Wunsch eingesandt

[2]) Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXVI, 1909, S. 84 ff.

kostet 368 M, ein Etui für drei Messer 115 M. Das Instrument ist fest und sicher gebaut und liefert trotz seines verhältnismäßig niedrigen Preises schöne Schnittserien. Ein Nachteil, der für die meisten histologischen Objekte aber weniger in Betracht kommt, ist bei diesem Instrument dadurch gegeben, daß es Schnitte liefert, die nicht eine plane Ebene, sondern Teile eines Zylindermantels darstellen.

In Frankreich verwendet man vielfach ein von *Stiassnie*-Paris als „Grand microtome automatique du Prof. RADAIS" bezeichnetes Mikrotom, das mit 400 Fr berechnet wird. Ein metallener, hufeisenförmiger Schlitten, der das Messer trägt und an einer drehbaren Achse fixiert ist, wird mit einer Handhabe, quer zum Verlauf der beiden Schenkel des Hufeisens, auf einer polierten Glasbahn und einem begrenzten Abschnitt des Kreisbogens hin und her bewegt. Zwischen den beiden Schenkeln des Hufeisens befindet sich der Objekthalter, der automatisch, entsprechend einer zuvor an der Mikrometerschraube erfolgten Einstellung, für jeden folgenden Schnitt um einen bestimmten Wert gehoben wird. Das Messer läßt sich nach Wunsch orientieren, jedes Rasiermesser mit gerader Schneide verwenden.

Endlich wäre von größeren Mikrotomen noch das von VINASSA[1]) zu nennen, das von *Büchi*-Bern hergestellt wird. Es ist zum Schneiden harter Objekte, Hölzer, Rinden geeignet.

Man kann an allen den beschriebenen größeren Mikrotomen einen Gefrierapparat anbringen, der verschiedentlich beim Schneiden zarter pflanzlicher Objekte wie Algen, Pilze und auch beim Studium der Plasmodesmen mit Vorteil benutzt wurde[2]). Er wird an Stelle der Objektklammer eingesetzt und besteht im allgemeinen aus einem hohlen Metallkästchen mit seitlichen Öffnungen. Eine Filzplatte dient dazu, diesen Apparat an der Ansatzstelle zu isolieren. Gegen seine Außenplatte wirkt von unten der Kegel eines durch Gummiblasebalg getriebenen Ätherzerstäubungsapparats. Der Preis einer solchen Gefriervorrichtung beträgt 920 bis 1380 M. Bei einem anderen Modell[3]) wird der Äther in der Kammer, auf welcher das Objekt einfrieren soll, durch eine Saugvorrichtung zur Verdunstung gebracht. Weiter werden u. a. von *Jung* auch Gefrierkammern für flüssige Kohlensäure zum Preise von 1472 M und wegen des billigen Arbeitens mit ihnen besonders empfehlenswerte von *Zimmermann*-Leipzig nach den Angaben von M. WOLFF[4]) für Äthylchlorid zum Preise von 300 bis 480 M hergestellt.

Außer den genannten komplizierten sind auch von verschiedenen Firmen einfache Mikrotome hergestellt worden, die den meisten Anforderungen der Mikrotomtechnik genügen, mit denen sich auch frische Gegenstände schneiden lassen. Sie sind namentlich Anfängern zu empfehlen. So liefert *Jung*-Heidelberg ein Studentenmikrotom AB (vgl. Fig. 35), das aus einem mittels Knebelschraube an die Tischplatte zu befestigenden Gestell besteht, an dem sich zwi-

[1]) Vgl. VINASSA, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. IX, 1887, S. 295.
[2]) Vgl. u. a. E. M. FREEMANN, Science, N. S. XXV, 1907, S. 747 ff.
[3]) Vgl. A. NOLL, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XVIII, 1901, S. 141.
[4]) Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXV, 1908, S. 174 und Bd. XXVI, 1909, S. 96.

schen zwei Spitzenschrauben eine senkrechte Achse (4 in Fig. 35) befindet, die oben den Messerhalter 9 und den Handgriff zur Bewegung, unten einen Hebel 5 zur automatischen Einstellung der Schnittdicke besitzt. Zur Herstellung von Paraffin- und Gefrierpräparaten wird ein Messerhalter mit quergestelltem, für Zelloidin und frische Präparate ein solcher mit längsgestelltem Messer benützt. Die Messerhalter werden, nachdem die Mutter 6 mittels eines Stiftes etwas gelöst ist (wobei man nach rechts zu drehen hat), von der linken Seite bis zum Anschlag hineingeschoben, worauf die Mutter wieder fest angezogen wird. Die Bestimmung der Schnittdicke geschieht durch Einstellen des Index auf den betreffenden Teilstrich mittels des kleinen Griffchen links unten. Die Abstände der Striche entsprechen einer Schnittfläche von 2,5 μ. Die Klötzchen mit den Paraffinpräparaten

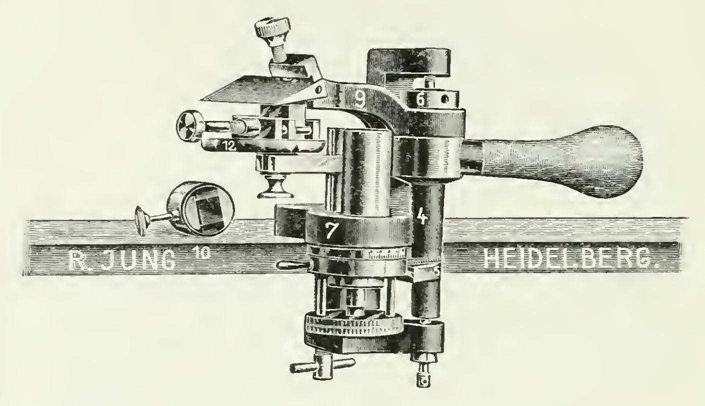


Fig. 35. Studentenmikrotom *AB* von *Jung*. Erklärung der Zahlen im Text.

werden in den Objekthalter 10 eingespannt. Um Schnittbänder zu erhalten, wird der Paraffinblock so zugeschnitten, daß er die Form eines Rechteckes hat: wenigstens sollen die vordere und die hintere Kante parallel laufen. Den zugeschnittenen Block umgibt man durch Eintauchen in geschmolzenes, ganz leichtflüssiges Paraffin mit einem Mantel. Nach dem Erkalten wird das weiche Paraffin weggeschnitten bis auf das an der vorderen und hinteren Seite, welches nun als Mittel für das Aneinanderkleben der Schnitte dient. Für Zelloidinpräparate, sowie für frische, nicht zu harte, kurz für alle Präparate, die sich zum Schneiden mit dem ziehenden Messer eignen, wird der Objekthalterträger 12 mit seitlicher Gabel und der Klammer benutzt, in welche Klötzchen oder manche Präparate unmittelbar eingespannt werden können. Die Klammer ist noch mit einem Alkoholgefäß versehen, welches die Befeuchtung des Präparates sehr erleichtert und auch zur vorläufigen Aufnahme der Schnitte dient. Dieses Gefäß macht bei kleinen Präparaten, wie sie hier in Betracht kommen, eine Wanne, in welcher unter Flüssigkeit geschnitten wird, vollständig überflüssig[1]). — Ein dem vorigen ganz ähnliches Mikrotom wird von der Firma *E. Leitz*-Wetzlar (Nr. 1213 des Mikrotom-Katalogs von 1922) zum

[1]) Über die Behandlung von Gefrierpräparaten vgl. den entspr. Prospekt von *R. Jung*, Ausg. Nr. 37, S. 4 ff.

Preise von 4400 M hergestellt. Dazu passender Kohlensäure-Gefrierapparat (Nr. 1219 desselben Katalogs) 1400 M.

Für das Schneiden frischer oder gehärteter pflanzlicher Objekte, insbesondere auch für nicht allzu harte Drogen nach vorherigem Aufweichen in Wasser oder verd. Alkohol, können wir aus eigener Erfahrung ein von Neuberger[1]) konstruiertes „einfaches Schul-Mikrotom“ empfehlen. Es besteht aus einer horizontalen, gußeisernen Bodenplatte, die am Tisch angeschraubt wird. Ein kranartiger, horizontaler Arm, der um eine vertikale Achse zwischen zwei Stahlspitzen um mehr als 180° drehbar ist, trägt das Messer, welches in jeder beliebigen Stellung festgeschraubt werden kann. Ein linksgeschliffenes Henking-Messer mit 5,5 cm langer Schneide kommt hierbei zur Benutzung. Der Objekthalter ist jenem des zuvor beschriebenen *Jung*schen

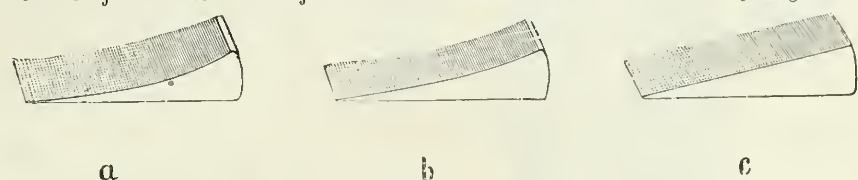


Fig. 36. Mikrotommesser von *Walb* im Querschnitt.

Mikrotoms ähnlich. Die Objektklammer besteht aus zwei durch eine Schraube gegeneinander zu pressenden Zylindersegmenten aus Holz, deren einander zugekehrte, flache Seiten durch eigenartige Führung stets parallel bleiben müssen. Zur Hebung des Objekts dient eine unterwärts befindliche Mikrometerschraube mit Zahnrad und federnder Sperrklinke. Jeder Zahn entspricht einer Hebung von 5 μ. Bei Herstellung dickerer Schnitte kann die Sperrvorrichtung abgestellt werden. Von *Weiss*-Freiburg kann dieses Mikrotom nebst Messer und Gefriervorrichtung zum Schneiden von Zelloidinpräparaten bezogen werden.

Mikrotommesser. Von einem guten Mikrotom ist zu verlangen, daß es tadellose Schnitte von mindestens fünftausendstel Millimeter Dicke zu liefern imstande ist. Solche Schnitte sind aber nur mit fehlerfreien Messern herzustellen. Die Mikrotommesser müssen viel korrekter als gewöhnliche Rasiermesser gearbeitet sein und lassen sich durch letztere nie vollkommen ersetzen. Für feuchte Schnitte werden die Messer schräg gestellt und müssen daher auch weit bedeutendere Länge besitzen als jene Messer, die man quer stellt, um in Paraffin eingebettete Objekte zu schneiden. Die schräg zu stellenden Messer sind mit abgebogenem Griff versehen (wie in Fig. 37 *A*), welcher auch eine sehr schräge Einstellung zuläßt. Die Schneide des Messers darf nicht so flach sein, daß sie federt, ein Übelstand, der bei Benutzung hohlgeschliffener Rasiermesser sich leicht einstellt. Die untere Fläche ist bei den Mikrotommessern flach geschliffen. Sie zeigen den in Fig. 36 vorgeführten Querschnitt, und zwar ist das Messer *a* mit seiner an der Schnittstelle besonders dünnen Klinge für weiche, das Messer *b* mit weniger ausgehöhlter Oberseite für härtere, das Messer *c* mit flacher Oberseite für verhältnismäßig harte Objekte bestimmt.

[1]) Eingehende Beschreibung Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XVII, 1908, S. 1ff.

Das für gewöhnlich benutzte Messer ist das in *b* dargestellte. — Beim Abziehen des Messers wird dessen vordere Kante keilförmig. Es bildet sich eine obere und untere Schneidenfacette, wobei es darauf ankommt, daß die untere Schneidenfacette genau parallel zur Gleitebene des Messerschlittens liegt. Sonst sind gute Schnitte unmöglich. Das Messer muß demgemäß nicht seiner ganzen unteren Seite nach, sondern nur der Schneidenfacette gemäß orientiert sein, und da diese schräg nach vorn aufsteigt, so muß, damit diese in eine wagerechte Lage kommt, die Unterseite des Messers gegen die Rückenfläche aufsteigen; daher an Messern, die mit Griff versehen und an diesem befestigt werden, die untere Fläche der Klinge stets um einen kleinen Winkel gegen die Ebene des Griffes gedreht ist. Bei den kurzen Messern, die in Messerhalter gefaßt werden, ist ebenfalls auf eine richtige Orientierung der Schneidenfacette, die bei einer entsprechenden Neigung der planen Unterseite des Messers leicht erreicht wird, zu achten. — Aus all dem Gesagten geht zugleich hervor, wie wichtig es ist, daß Mikrotommesser in richtiger Weise abgezogen werden. Sie dürfen nicht einem unerfahrenen Instrumentenmacher übergeben werden. Besser wird es meist sein, das Mikrotommesser selbst abzuziehen. Verschiedene Ratschläge sind erteilt worden, wie dabei am zweckmäßigsten zu verfahren ist. Man wird gut tun, den Angaben eines erfahrenen Mechanikers, wie *Walb*-Heidelberg, zu folgen, dessen Mikrotommesser einen wohlverdienten Ruf genießen. *Walb* hat seinem Preisverzeichnis eine Anleitung zum Abziehen der Messer vorausgeschickt, der wir mit gutem Ergebnis bis jetzt folgten. Vor allem gilt es, die grifflosen Messer zum Abziehen mit einem Griff zu versehen. Derartige Griffe sind u. a. von *Jung*, *Walb* zu beziehen, der vernickelte Griff Nr. 371 bei *Jung* für 138 M, ein Griff von Jakarandaholz Nr. 372 zum selben Preis. Zum Abzug ist unbedingt eine Abziehvorrichtung erforderlich, um von beiden Seiten einen möglichst gleichmäßigen Abzug zu erzielen. Die Abziehvorrichtungen werden am vorteilhaftesten in Röhrenform gewählt, da diese leichter auf die Messer einzupassen sind. Die Messer nach Thoma (siehe Fig. 37a) können auch mit Drahtabziehvorrichtungen, welche nur auf der Planseite des Messers angebracht werden, abgezogen werden. Bei diesen Abziehdrähten ist es erforderlich, daß die Messer jeweils eingeschickt

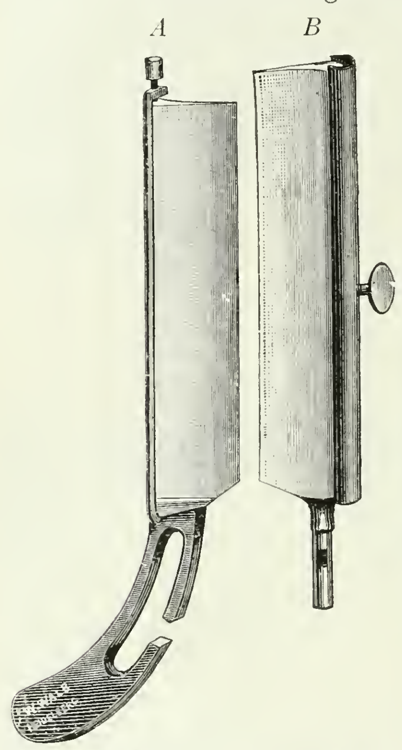


Fig. 37. *A* Mikrotommesser mit aufgespannter Abziehvorrichtung. *B* Mikrotommesser mit aufgeschobener Abziehvorrichtung.

werden, um ein ganz genaues Anpassen zu ermöglichen. Bei den Abziehvorrichtungen in Röhrenform wird die Röhre durch eine Schraube oder eine Feder auf den Messerrücken eingedrückt. Bei Bestellung des Messers, sofern eine Abziehröhre verwendet wird, ist die Länge der Schnitte anzugeben, sowie die Schleifart, ob a, b oder c, wie oben angegeben. — Als Abziehstein ist ein weicher, gelber belgischer Stein zu empfehlen, der nur an seiner gelben Seite benutzt wird. Man hat darauf zu achten, daß man in den Besitz eines wirklich echten, guten Steins gelangt; ein solcher ist von *Walb* (Nr. 8186), bei 20 zu 4 cm Oberfläche, für 200 M zu beziehen. Diesen Stein bestreicht man bei der Benutzung mit Palmölseife und benetzt letztere stark mit reinem Wasser, damit sich ein Seifenschaum bildet, der während der ganzen Zeit des Abziehens auf dem Stein zu erhalten ist. Eine andere Sorte von brauchbaren Abziehsteinen für Mikrotommesser ist die der bläulichgrünen. Diese Steine, die einen sehr feinen Schnitt ergeben, beanspruchen beim Abziehen einen dreifach so langen Zeitraum als die vorher erwähnten, gelben belgischen Steine, da die blauen Steine nicht die Schärfe der gelben besitzen. Sehr empfehlenswert ist es, wenn man ein Mikrotommesser, das sehr stumpf ist, zuerst auf einem gelben Stein schärft und dann, um einen äußerst feinen Schnitt zu erlangen, einige Male auf einem blauen Stein (siehe Nr. 8184), abzieht. Bei Benutzung des blauen Steins bediene man sich eines unbedingt dazugehörigen, noch weicheren Steins, eines sogenannten Aufreibers Nr. 8185, mit welchem, nachdem der Stein mit Wasser benetzt, auf demselben ein Schlamm angerieben wird, der ebenfalls während der ganzen Dauer des Abziehens auf dem Stein erhalten

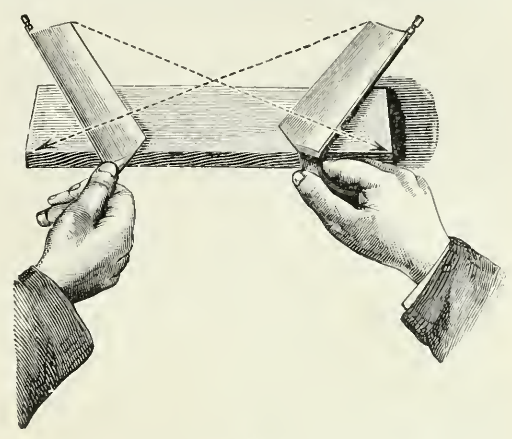


Fig. 38. Abziehen der Mikrotommesser auf dem Stein nach *Walb*.

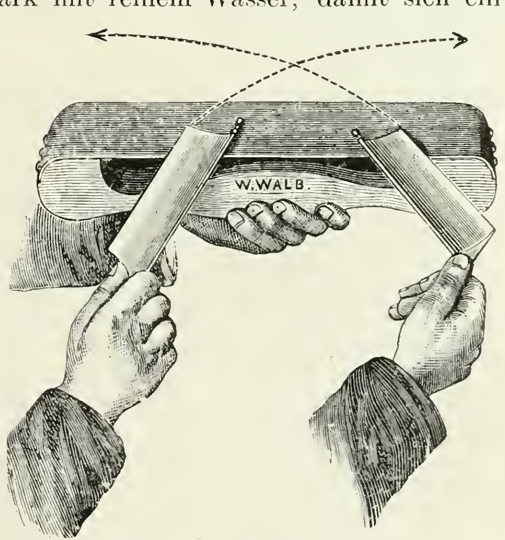


Fig. 39. Abziehen der Mikrotommesser auf dem Streichriemen nach *Walb*.

bleiben muß, um dessen Poren offen zu halten. Die Messer sind zunächst an der konkaven Seite so lange zu schärfen, bis sich an der Schneide ein feiner „Faden“ gebildet hat, den man beim leichten Hinziehen des Messers über den Fingernagel bemerkt. Der „Faden“ muß an der ganzen Schneide vorhanden sein. Dann läßt man das Messer ohne Druck, und zwar mit der Schneide nach vorn über den Stein gleiten, so wie es in Fig. 38 zu sehen ist. Es ist deshalb notwendig, den „Faden“ an der oberen konkaven Seite des Messers herzustellen, damit der Abzug an der unteren planen Seite stets schwach bleibe. Ein Messer, an welchem man auch an der oberen Seite eine starke Schneidenfacette herstellt, ist nicht zu brauchen und muß wieder plan geschliffen werden. Ist eine hinreichende Schärfe erlangt, so bedient man sich eines Streichriemens 8165 oder 8166, je nach der Länge des Messers. Der Preis stellt sich auf ca. 135 bis 175 M. Dann wischt man es vorsichtig mit alter Leinwand ab, die man zwischen Daumen und Zeigefinger faltet, um die Schneide des Messers nicht zu berühren und zieht es nochmals in der in Fig. 39 dargestellten Art leicht über den Streichriemen. Das Messer muß jetzt ein Haar frei durchschneiden können. Nun wischt man es mit einem weichen Rehleder ab.

Von J. W. Moll wird die Benutzung von Platten aus Spiegelglas zum Schleifen der Mikrotommesser besonders empfohlen[1]). Als Schleifmittel dienen Wiener Kalk, Schmirgel und Eisenoxyd oder Diamantine. Moll rät, das Abziehen des Messers unmittelbar vor der Anfertigung der Schnitte vorzunehmen, da ein Messer, das auch nur einen Tag vorher abgezogen wurde, von seiner Schärfe bereits eingebüßt hat. Durch Abziehen auf Streichriemen sollen die Messer untauglich werden. — Auch J. Lendvai[2]) empfiehlt zum Schleifen der Mikrotommesser Spiegelglasplatten, und zwar drei Stück, von denen die eine nur zum Schleifen mit Schmirgel, die zweite mit Wiener Kalk und die dritte mit Eisenoxyd oder Diamantine verwendet wird. Diese Platten werden in einem hölzernen Block aufbewahrt, der drei für sie bestimmte, mit Tuch ausgefütterte Spalten besitzt. Zum Gebrauch werden sie aus dem Block herausgenommen und nacheinander auf der oberen Fläche des Blocks mit Schrauben befestigt. Eine solche Einrichtung ist von *Reichert*-Wien zum Preise von 1680 M zu beziehen.

Für das Schneiden ganz harter Gegenstände, wie Rinden und dergl., läßt Vinassa die Messer seines zuvor erwähnten Mikrotoms nach Art eines Hobeleisens schleifen. An dem beiderseits planen Messer wird eine steil aufsteigende Schneidenfacette nur an der oberen Seite hergestellt.

Neuerdings sind verschiedentlich zum Schneiden aus freier Hand und am Mikrotom auch die Messer bestimmter Sicherheits-Rasierapparate empfohlen worden[3]), jene dünnen, rechteckigen Stahlblättchen, deren parallel verlaufende Längsseiten zu Schneiden geschliffen sind. Sie werden mittels Schrauben zwischen handliche Stahlblöcke oder sonstige Halter eingespannt; es soll sich gut mit ihnen arbeiten lassen.

---

[1]) In Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. IX, 1892, S. 457 ff. Vgl. auch die Angaben von L. W. Ssobolew, ebenda, Bd. XXVI, 1909, S. 65 ff.

[2]) Ebenda, Bd. XXVI, 1909, S. 203 ff.

[3]) B. H. Bentley, Ann. of Bot., Bd. XXV, 1911, S. 273 und C. J. Chamberlain, Bot. Gaz., Bd. LI, 1911, S. 298; ferner Derselbe, Methods in Plant Histology, 3. Aufl., Chicago, 1915, S. 9 ff.

Schneiden der Objekte. Frische Objekte wird der Botaniker für gewöhnlich aus freier Hand schneiden. Es ist vor allem notwendig, daß er sich auf diese Art des Schneidens einübt. Zum Schneiden mit Mikrotomen sind vornehmlich nur weiche Gegenstände geeignet; allein das Mikrotom von VINASSA und die zuletzt erwähnten von *Jung* und NEUBERGER waren unter den bisher betrachteten auch auf härtere Objekte eingerichtet[1]). Sie liefern freilich von solchen harten Objekten kaum so dünne Schnitte, wie sie aus weichen Objekten zu gewinnen sind. Besonders harte Gegenstände, wie Hölzer, manche Samen, Früchte u. dgl., die mit dem Mikrotom von VINASSA geschnitten werden sollen, weicht man zweckmäßig zuvor etwas auf. Das wird für Holz am besten geschehen, wenn man es in Wasser quellen läßt, eventuell hierauf in ein Gemisch von Alkohol und Glyzerin legt. Samen und Früchte setzt man, soweit die Verquellung des Inhalts nicht zu befürchten steht, etwa ½ Stunde lang der Einwirkung von heißem Wasserdampf aus. Kleine, lufttrockene Samen und Früchte können eingeschmolzen werden, indem man mit einer heißen Nadel eine kleine Partie der Oberfläche eines Paraffinwürfelchens verflüssigt und das Objekt in der erwünschten Lage dort tief eindrückt. Dabei hat man sich bei der Wahl des Paraffins nach der Härte der zu umhüllenden Objekte zu richten. Von Vorteil ist es unter Umständen, statt Paraffin japanisches Wachs anzuwenden, das fester ist und dem Objekt besser anhaftet[2]), oder ein Gemenge von japanischem Wachs mit dem noch festeren Karnaubawachs[3]). Mit dem einfacheren *Jung*schen Mikrotom (Fig. 35) kann man auch recht harte Gegenstände schneiden, nur ist dafür zu sorgen, daß die Schnittfläche möglichst klein sei. Auch wird sich ein Befeuchten der Schnittfläche mit Wasser empfehlen. Bei Objekten, die nicht imprägniert sind und leicht beim Schneiden zerbröckeln, z. B. Haferkörnern, ist es gut, auf der jedesmaligen Schnittfläche etwas Kollodium-Lösung mit dem Finger zu verreiben. Nach ½ Min. ist ein Kollodiumhäutchen entstanden, und der Schnitt kann nun ausgeführt werden, ohne zu zerfallen[4]). Hölzer, die man mit den genannten Mikrotomen schneiden will, sind zuvor möglichst genau im Objekthalter zu orientieren. Das in Betracht kommende *Jung*sche und NEUBERGERsche Mikrotom gibt öfters verzerrte und zerfetzte Holzschnitte. Es läßt sich mehr oder weniger vollständig diesem Übelstand durch Imprägnieren des Holzstückes mit Glyzeringummi abhelfen[5]). Es ist das ein Gemisch von 10 g Gummi arabicum, 10 g Wasser und 40 bis 50 Tropfen Glyzerin[6]) mit Zusatz von etwas Karbolsäure. Diese Lösung wird auf mindestens das Dreifache vor der Benutzung verdünnt und die Pflanzenteile in möglichst kleinen Stücken darin eingelegt. Lebende Pflanzenteile müssen zuvor durch Alkohol getötet, aus trockenen muß die Luft durch Alkohol ausgetrieben worden sein. In beiden Fällen haben die Objekte aber aus dem Alkohol zunächst in Wasser und hierauf erst in die Gummilösung zu gelangen. Unter Umständen dürfte sich eine Injektion mit

[1]) S. a. Reg. IV, Schneiden.
[2]) L. KOCH, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXIX, 1896, S. 55.
[3]) Ebenda, S. 58.
[4]) Ebenda, S. 56.
[5]) Ebenda, S. 59.
[6]) Nach L. DIPPEL, Handb. d. allg. Mikrosk., 2. Aufl., S. 773.

der Gummilösung unter der Wasserstrahlluftpumpe empfehlen. Das Objekt wird in der Lösung offen an der Luft gelassen, bis die Lösung durch Verdunstung Sirupkonsistenz gewonnen hat. Das überflüssige Gummi wird hierauf von dem Objekt entfernt und dies auf einer Glasplatte getrocknet. Am nächsten Tage entfernt man zweckmäßig durch einen Schnitt die Gummikruste von der Seite des Objekts, an der die Schnitte ausgeführt werden sollen, und 2 bis 3 Tage später ist das Objekt meist zum Schneiden mit dem Mikrotom geeignet. Das Gummi entfernt man aus den Schnitten, indem man sie auf Wasser legt und dieses auf 40 bis 50⁰ erwärmt. Auch in Gelatine eingebettete Hölzer lassen sich mit dem Mikrotom schneiden (vgl. dazu X. Abschn., gegen Ende).

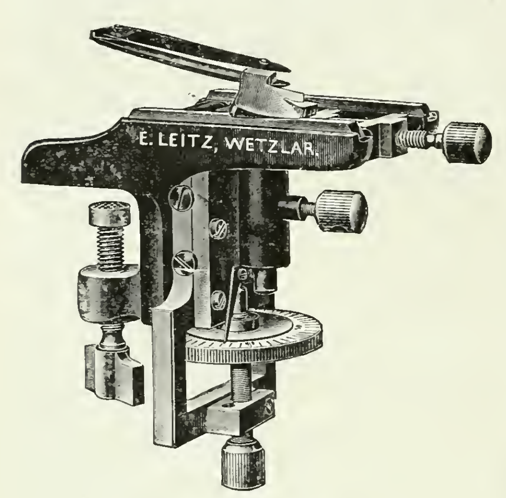


Fig. 40. Handmikrotom von *Leitz*.

Vielfach ist es das Einfachste, frische, nicht zu alte Pflanzenteile, die man mit einem Mikrotom schneiden will, zwischen die beiden Längshälften einer Holundermarkstange oder eines Flaschenkorkes einzuspannen. Holundermark wird man bei besonders weichen, Flaschenkork bei etwas härteren Blättern, Stengelteilen u. dgl. wählen. Bei Anwendung von Kork hat man darauf zu achten, daß er nicht von braunen, körnigen Schichten durchzogen ist, die sehr hart sind und das Messer stumpf machen. Statt der Holundermark- oder Korkstückchen kann man auch zwei glatte Paraffinplatten von etwa 20 mm Länge, 14 mm Breite und 3 mm Dicke nehmen; die zwischen ihnen gelegten Pflanzenteile werden dadurch besonders fest in ihrer Lage erhalten, daß man die Paraffinplatten durch Berühren der Kanten mit einem heißen Skalpell zusammenschmilzt und dann erkalten läßt[1]). Wendet man eines der großen Mikrotome zu solchem Schneiden an, so stellt man das Messer möglichst schräg zu dem Objekt, damit die Schneide das Objekt nicht quer, sondern schräg trifft, die Schneide somit nicht gegen das Objekt drückt, vielmehr durch dasselbe hindurchgezogen wird. Auch muß beim Schneiden solcher frischen, saftigen Objekte deren Schnittfläche, sowie die Messerklinge stets mit Wasser benetzt sein. Im allgemeinen wird man für solches Schneiden, soweit man es nicht aus freier Hand ausführen will, auch noch einfachere Mikrotome als selbst das zuletzt genannte benutzen können, kleine Handmikrotome, bei denen das Messer, ein Rasiermesser, aus freier Hand geführt wird. Solche Handmikrotome sind von den meisten optischen und mechanischen Anstalten zu beziehen. *Leitz* (Nr. 1214 des Spezialkatalogs für Mikrotome) konstruiert für

[1]) Nach Newton B. Pierce, Journ. of applied Microsc. and Labor. Methods. Vol. V, Dez. 1902, S. 2074.

2400 M ein Handmikrotom (Fig. 40), das man am Tische festschraubt und bei welchem das Messer über zwei schmale Glasbahnen geführt wird. Man benutzt zum Schneiden ein plankonkaves Messer, dessen plane Seite man den Glasbahnen andrückt und das man durch das Objekt hindurchzieht. Das Objekt befestigt man in einer abnehmbaren Klemme, die mit einer Mikrometerschraube in Verbindung steht. Diese ist geteilt, so daß Hebungen von 0,01 mm eingestellt werden können. Einfacher ist das in Fig. 41 dargestellte Zylindermikrotom Nr. 1215, das *Leitz* für 800 M liefert. Das zwischen zwei passenden Holundermark- bzw. Korkstückchen eingespannte Objekt wird in einem Zylinder, der sich 10 mm unter die Fläche des Tisches hinabdrücken läßt, mit einer Klemmschraube befestigt. Die Hebung des Objektes erfolgt durch Drehung der unten befindlichen Mikrometerschraube und beträgt $^1/_{100}$ mm für jeden ihrer Teilstriche; die Abwärtsbewegung der inneren Hülse muß aber, nachdem man die Schraube zurückbewegt hat, durch Druck mit den Fingern von oben her vollzogen werden.

Ähnliche kleine Handmikrotome sind von *Walb* Nachf.-Heidelberg zu 550 M (Nr. 8195) zu beziehen. Halter, um die Handmikrotome am Tische zu befestigen, werden mit 150 M berechnet.

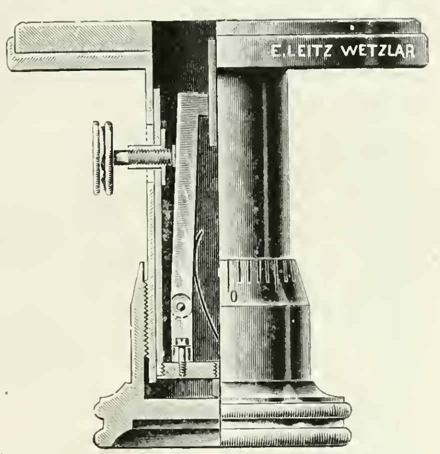


Fig. 41. Einfaches Handmikrotom (Zylindermikrotom) von *Leitz*, zur Hälfte durchschnitten.

F i x i e r u n g u n d H ä r t u n g d e r O b j e k t e. Fast alle pflanzlichen Objekte, von denen es erwünscht ist, sehr dünne Schnitte zu erhalten, sind an sich schon klein oder lassen sich zuvor in relativ kleine Stücke zerlegen, so daß eine Messerschlittenbahn von 25 cm, selbst bei Schrägstellung der Messer, für sie genügt. Auch sind pflanzliche Objekte, die an so dünnen Schnitten untersucht werden sollen, im allgemeinen weich. Man wird selten in die Lage kommen, solche Objekte frisch zu schneiden, man wird sie vielmehr in fixiertem und gehärtetem Zustande untersuchen. Denn bei diesen Objekten gilt es fast stets, den Zellinhalt zu studieren, der nur im erstarrten, d. h. fixierten und gehärteten Zustand für die Beobachtung geeignet ist. Daher spielen Fixierung und Härtung der Objekte eine wichtige Rolle bei allen histologischen Untersuchungen. Vor allem gilt es aber, an den durch Fixierung gewonnenen Bildern des Zellinhaltes das auseinanderzuhalten, was wirkliche Struktur, die auch dem lebenden Objekt zukommen dürfte, und was nur Fällungserscheinung ist. Mancher als Struktur protoplasmatischer Gebilde beschriebene Bau ist nur auf eine bestimmte, durch das angewandte Reagens bedingte Fällung der Eiweißkörper, auch anderer Stoffe zurückzuführen, und es sind im besonderen die als Fixierungsmittel bevorzugten sauren Flüssigkeiten, welche weit mehr noch als neutrale, an lebende Strukturen täuschend erinnernde Fällungsbilder er-

zeugen[1]). Man hat daher an den erhaltenen Bildern strenge Kritik zu üben. Vor allem darf man sich ein Urteil über diese Bilder erst nach Anwendung möglichst verschiedener Fixierungsmittel und auf Grund ausgedehnterer Erfahrungen bilden. Sehr zu empfehlen ist es auch, die Fixierungsflüssigkeit zuvor auf frische Schnitte unter dem Mikroskop einwirken zu lassen und so deren Wirkungsweise direkt zu kontrollieren[2]).

Ein Fixierungsmittel ist um so besser, je schneller es in das zu fixierende Objekt eindringt, je gleichmäßiger seine Wirkung in dessen verschiedenen Tiefen ist, je rascher es den protoplasmatischen Zellinhalt zum Erstarren bringt, je vollkommener bei diesem Erstarren die Struktur erhalten bleibt, welche dem Zellinhalt im lebenden Zustande zukam. Der zweiten dieser Anforderungen genügt bei den pflanzlichen Geweben am besten der Alkohol; dieser ist daher auch das allgemeinste Fixierungsmittel für botanische Objekte. Er geht sehr leicht durch die pflanzlichen Membranen, gelangt also auch rasch zu tieferen Gewebeteilen und fixiert schnell den Zellinhalt. Auch bringt er nicht allein das Protoplasma zum Erstarren, er härtet es zugleich und macht es daher auch schneidefähig. Stets muß der Alkohol, und das gilt auch für alle anderen zum Fixieren und Härten benutzten Flüssigkeiten, in Mengen angewandt werden, die das Vielfache des Volumens des zu fixierenden Objekts betragen. Ein Aufenthalt von wenigen Tagen im Alkohol pflegt zu genügen, um auch im Innern größerer Pflanzenteile, ja selbst ganzer Pflanzen, den Zellinhalt entsprechend zu härten. Man benutzt zum Fixieren vielfach absoluten Alkohol, doch genügt so gut wie immer schon der weit wohlfeilere 96-prozentige. Die Fixierung wird natürlich beschleunigt, wenn man die Objekte zuvor in kleine Stücke zerlegt, wenn man stark kutinisierte, weniger durchdringliche Häute von ihnen entfernt, wenn man endlich, bei Einhaltung der nötigen Vorsichtsmaßregeln, den Alkohol heiß anwendet. Dann wirken nämlich Alkohol und hohe Temperatur gleichsinnig beim Erstarren des Protoplasmas zusammen. Unter Umständen empfiehlt es sich, schwächeren als 96-proz. Alkohol anzuwenden, worüber die an dem bestimmten Objekt gemachten Erfahrungen zu entscheiden haben. Vielfach werden dem Alkohol noch andere fixierende Substanzen zugesetzt; so gab z. B. bei Farnen ein Gemisch von 6 T. Alk. abs. mit 1 T. Essigsäure und 3 T. Chloroform die besten Ergebnisse[3]). Soweit die Objekte mit Alkohol allein fixiert worden sind, können sie beliebig lange in ihm gelassen werden; ist dem Alkohol eine andere Substanz zugesetzt worden, so überträgt man das Objekt nach vollendeter Fixierung in reinen Alkohol, den man je nach Umständen noch wiederholt wechselt. — Nächst dem Al-

[1]) Vgl. A. Fischer, Anat. Anz., Bd. IX, 1894, S. 678, und Bd. X, 1895, S. 769; ferner Derselbe, Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas, 1899 und die u. a. von W. Berg im Archiv f. mikrosk. Anat. und Entwicklungsgesch., Bd. LXV, 1905, S. 298 ff. gegen A. Fischer gemachten Einwände.

[2]) Vgl. hierzu auch W. Berg, Die Fehlergröße bei den histologischen Methoden, Berlin, 1908. Vorl. Mitt. dazu im Anat. Anz., Bd. XXXI, 1907, H. 9. 10. Ferner Fr. Tobler, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXVI, 1909, S. 51; schließlich A. Meyer, Morphol. und physiol. Analyse der Zelle der Pflanzen und Tiere, Jena, 1920, S. 470 ff.

[3]) Fixierungsflüssigkeit nach Carnoy, La Cellule, Bd. III, 1887, Append. S. 276, für Farne von F. Rosen empfohlen, Cohns Beitr. z. Biol. d. Pfl., Bd. VII, 1895, S. 232.

kohol kommt für Fixierung pflanzlicher Objekte besonders die in der tierischen Histologie so viel benutzte Chromsäure in Betracht. Die mit ihr fixierten Objekte geben tatsächlich schärfere Bilder als die in Alkohol gelegten, doch dringt die Chromsäure sowie alle anderen noch zu besprechenden Fixierungsmittel weit schwieriger als der Alkohol in pflanzliche Gewebe ein. Es gilt daher, die Objekte, falls sie nicht an sich schon sehr klein sind, in so kleinen Stückchen in das Reagens zu bringen, als es aus sonstigen Gründen noch möglich und zulässig ist. Fast noch mehr als bei Anwendung von Alkohol ist bei allen den anderen Fixierungsmitteln darauf zu achten, daß sie in Mengen zur Anwendung gelangen, die das Vielfache des Volumens des zu fixierenden Objektes betragen. Man wird unter Umständen auch gut tun, falls man größere Mengen des Objektes fixiert, die fixierende Flüssigkeit nach einiger Zeit zu erneuern. Auch hier wird man hin und wieder heiße Flüssigkeit mit Vorteil anwenden können. Da Chromsäurelösungen und auch die anderen noch zu nennenden Fixierungsflüssigkeiten besonders schwer durch kutinisierte und verkorkte Membranen dringen, so wird man ebenfalls hier, wenn irgendwie tunlich, derartige Hüllen von den Objekten zu entfernen haben. Auch wird sich hin und wieder empfehlen, um ein rasches Eindringen der Fixierungsflüssigkeit in das Gewebe zu erwirken, den zu fixierenden Pflanzenteil mit dieser Flüssigkeit unter der Luftpumpe zu injizieren oder vor dem Fixieren für einige Sekunden in 30- oder höher-, etwa 95-proz. Alkohol zu tauchen[1]), wodurch, was namentlich bei behaarten Objekten nötig ist, die anhaftende, das Eindringen des Fixierungsmittels erschwerende Luft entfernt wird[2]). Die Chromsäure kommt bei pflanzlichen Objekten am häufigsten in 1-proz. Lösung zur Anwendung. Unter Umständen ist eine noch schwächere, nur 0,5- bis 0,25-proz. Lösung vorzuziehen[3]). Die Chromsäure fixiert nicht nur, sondern sie härtet auch den Zellinhalt. Geschieht dies auch nicht in so hohem Maße, wie durch den Alkohol, so wird doch der Zellinhalt direkt scheidbar. Übrigens müssen ja die Objekte später, um entsprechend eingebettet werden zu können, den Alkohol passieren, in dem dann eine Nachhärtung erfolgt. Da im Alkohol innerhalb der mit Chromsäure fixierten Objekte Niederschläge sich bilden können, die Chromsäure dort auch im Licht leicht zu Chromoxyd sich reduziert, weil endlich selbst sehr verdünnte Chromsäure die pflanzlichen Membranen langsam mazeriert, muß die Chromsäure aus dem pflanzlichen Objekt nach vollendeter Fixierung wieder entfernt werden. Bei sehr kleinen Objekten ist die Fixierung mit Chromsäurelösung schon nach wenigen Stunden vollzogen, bei etwas größeren Objekten nach etwa einem Tage. Spätestens nach einigen Tagen sind die Objekte mit fließendem Wasser sorgfältig auszuwaschen und in die andere Konservierungsflüssigkeit zu übertragen. Wir haben vielfach bei kleinen Objekten gute Erfahrungen mit Wasser gemacht, dem Kampherstückchen zugesetzt waren. Meist wird man aber die Übertragung in Alkohol vollziehen. Man darf nicht sofort starken Alkohol nehmen, es empfiehlt sich vielmehr, das Objekt zunächst auf etwa

[1]) Nach L. Digby, Ann. of Bot., Vol. XXXIII, 1919, S. 135 ff.
[2]) Vgl. Ch. Shattuck, Bot. Gaz., Vol. XL, 1905, S. 209 ff.
[3]) Vgl. J. W. Moll, Progressus rei botanicae, Bd. II, 1908, H. 2.

2 Std. in 30-proz. Alkohol, dann auf weitere 2 Std. in 50-proz., dann auf ebensolange in 70-proz., dann in 80-proz., schließlich in etwa 95- oder 96-proz. Alkohol zu legen und hierin aufzubewahren. Unter Umständen tut da auch ein Gemisch von gleichen Teilen Alkohol, Glyzerin und Wasser gute Dienste. Sind die Objekte voluminöser, so gilt es, bei ihrer Übertragung aus dem einen Alkohol in den anderen die einzelnen Zeitabschnitte entsprechend zu verlängern. Das Auswaschen der in Chromsäure fixierten Objekte in fließendem Wasser sollte, wenn möglich, da die Objekte sonst bei der Weiterbehandlung leicht brüchig werden, nicht viel mehr als 2 Std. dauern. Wir nehmen es in größeren Gefäßen unter der Wasserleitung vor und verwenden beim Auswaschen, wie vielfach auch beim Fixieren, kleine Glaszylinder, die einen überstehenden Rand und einen eingeschliffenen Kugelstopfen besitzen und 8 cm hoch sind, bei einem Durchmesser von 3 cm. *Gerhardt*-Bonn liefert diese Gläser (Nr. 1103 der Preisliste von 1914) zum Preise von 16,50 M. Zwecks Auswaschens der in solchen Gläsern fixierten Objekte nehmen wir den Kugelstopfen ab, spannen vor oder nach Abgießen der Fixierungsflüssigkeit mittels eines Gummirings ein Stück feinmaschiger Gaze oder Tüll über die Öffnung oder legen ein Stück feinmaschigen, verzinkten Drahtgeflechts darüber, dessen überstehende Kanten man nach unten dem Glase fest andrückt, und lassen den Wasserstrahl einströmen. Auf diese Weise werden selbst sehr kleine Objekte zurückgehalten und gut ausgewaschen. Die Entwässerung der Objekte wird am besten ebenfalls in diesen Gläsern vollzogen; man ersetzt die jeweilige Flüssigkeit durch die nächstfolgende, womit das Übertragen aus einem Gefäß in das andere fortfällt[1]). Um in einer größeren Anzahl von solchen Gläsern das Auswaschen gleichzeitig vornehmen zu können, verbinden wir mit dem Hahn der Wasserleitung ein an seinem Ende abgeschlossenes Rohr, das mit einer größeren Zahl seitlicher, in kurze Röhrchen mündender Öffnungen versehen ist. Ein solches Rohr wird in wagerechter Stellung befestigt und die Auswaschungsgefäße unter ihm in einem größeren, mit Abfluß versehenen Becken oder Zinkkasten entsprechend verteilt. Wir haben uns eine Anzahl solcher mit einer verschiedenen Zahl von Ausflußöffnungen versehener Röhren selbst aus Glas hergestellt und befestigen sie nach Bedarf an der Wasserleitung. Auch hat sich eine brausenartige Vorrichtung sehr bewährt. Sie besteht aus einem kurzen, an einem Ende sich glockenförmig erweiternden Glasrohr, das durch einen je nach Größe und Wunsch mehrfach durchbohrten Kautschukstopfen verschlossen ist, in dessen Löchern je ein kleines, bei der Austrittsstelle aus dem Stopfen etwas auswärts gebogenes Glasröhrchen steckt. Vermittels eines kurzen Gummischlauches wird diese Vorrichtung an das Auslaufrohr der Wasserleitung angeschlossen. Je nach der Stärke des einströmenden Wassers treten die aus den Röhrchen kommenden Strahlen mehr oder weniger weit auseinander. Diese Vorrichtung ist namentlich dann von Vorteil, wenn man den Wunsch hat, eine Anzahl umfangreicher Gefäße zu gleicher Zeit mit fließendem Wasser zu versorgen. Man kann sich im übrigen nach dem Vorgang von E. Schoebel[2]), Neapel,

[1]) Vgl. im übrigen die auf S. 71 unter [3]) gegebenen Hinweise.
[2]) Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XX, 1903, S. 170.

auch dadurch helfen, daß man auf einen als Fuß dienenden, nicht zu hohen Glaszylinder eine, am besten runde, Glasplatte kittet; diese wird mit einer gleichgroßen Fließpapierscheibe bedeckt, über die man kreuzweise eine Anzahl etwa 1 cm breite, an den Enden zugespitzte Streifen von gehärtetem Fließpapier legt. Die überstehenden Enden der Papierstreifen biegt man rechtwinklig nach abwärts. In die Mitte der so bedeckten Scheibe bringt man ein kleines Schwämmchen. Auf dieses trifft der nicht zu kräftige Wasserstrahl, verteilt sich allmählich auf die Fließpapierstreifen und bildet ebensoviel Nebenstrahlen, wie Fließpapierstreifen aufgelegt wurden. Um ganz sicher zu sein, daß das Wasser nur von den Streifenenden abläuft, bestreicht man die zwischen den Streifen sichtbar bleibenden Fließpapier-Scheibenstücke vor dem Gebrauch an den Außenrändern, ca. 1½ cm breit, mehrmals mit geschmolzenem Paraffin.

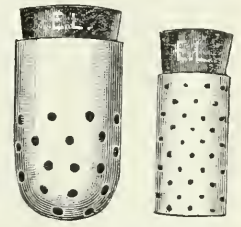


Fig. 42. Siebeimerchen zum Fixieren und Auswaschen kleiner Objekte.

Für kleine, bzw. zarte Objekte, die beim Übertragen aus einem Gefäß in das andere leicht geschädigt werden können, wenden wir auf Veranlassung von D. G. Fairchild[1]) auch kleine Siebeimerchen aus Porzellan an. In diesen fein durchlöcherten Behältern (Fig. 42) werden die Objekte in die Fixierungsflüssigkeit eingesenkt. Nachdem die Fixierung in den Säuren erfolgt ist, setzen wir einen Pfropfen auf und lassen die Behälter unter der Wasserleitung in einer Schale schwimmen. Der einfließende Wasserstrahl veranlaßt Strömungen, welche ein vollkommenes Auswaschen der in den Behältern eingeschlossenen Objekte ermöglichen. Die weitere Übertragung in verschiedenprozentige Alkohole wird ebenfalls samt dem Gefäß vollzogen. Diese kleinen Siebeimerchen stellt *Gerhardt*-Bonn glasiert und auf Wunsch auch unglasiert zum Preise von 8,75 M her. Die fixierten Objekte können innerhalb solcher Siebeimerchen in größeren Gefäßen, falls erwünscht, weiter getrennt aufbewahrt werden. Auch lassen sich beim Einsammeln kleiner Objekte in der freien Natur diese gleich auf die verschiedenen Siebeimerchen verteilen, in welchen weiterhin die Fixierung vorgenommen werden soll, auf den unglasierten Eimerchen kann man Bleistiftnotizen anbringen.

Sollte kein fließendes Wasser zur Verfügung stehen, so kann man sich durch wiederholtes Wechseln des Wassers, etwa 4—5 mal innerhalb 24 Stunden, helfen. Ein Wechsel des Wassers während der Nacht ist dabei nicht nötig[2]). Will man die Nachteile allzu kalten Leitungswassers (Luftblasenbildung, die das Auswaschen verzögert, Schädigung infolge der Kälte) ausschließen, so entnimmt man das Wechselwasser einem größeren Behälter, in dem das Wasser schon eine Zeitlang gestanden und Zimmertemperatur angenommen hat.

Statt Chromsäure wird unter Umständen auch Osmiumsäure zum Fixieren gebraucht. Man verwendet sie meist in ½- bis 1-proz. Lösungen. Mit Osmiumsäure allein pflegt man freilich nur sehr kleine pflanzliche Objekte, einzellige Algen, Schwärmsporen u. dgl., zu fixieren. Statt der Lösung wendet man auch wohl Osmiumsäure-

[1]) Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XII, 1895, S. 301.
[2]) Nach brieflicher Mitteilung von G. Tischler.

Dämpfe an. Um diese zur Wirkung zu bringen, hält man einen flachen, hängenden Wassertropfen, in welchem sich die zu fixierenden Objekte befinden, über die Mündung eines Gefäßes, das 1- bis 2proz. Osmiumsäurelösung enthält. Meist ist die vollständige Fixierung in sehr kurzer Zeit, spätestens einer halben Stunde, vollzogen. Da die Osmiumsäure die Augen und die Schleimhäute der Luftwege stark angreift, ist bei solchen Operationen Vorsicht zu üben. Auch Essigsäure kommt in 1- bis 2-proz. Lösungen bei pflanzlichen Objekten zur Verwendung; doch, da sie für sich allein meist unvollkommener als Chromsäure fixiert, nur dort, wo man das Objekt im fixierten Zustand untersuchen will: so beispielsweise, wenn es gilt, in Pollenmutterzellen Kernteilungsstadien aufzufinden. Der Inhalt der Antheren wird alsdann in einen mit entsprechendem Farbstoff versetzten Tropfen der 1- bis 2-proz. Essigsäure entleert und unmittelbar in Untersuchung genommen. Weit besser fixiert konz. Pikrinsäure; sie hat sich demgemäß, für sich allein angewandt, längere Zeit einer gewissen Beliebtheit in der pflanzlichen Histologie erfreut. Die Pikrinsäure färbt die Gewebe gelb, was aber meist keinen Nachteil im Gefolge hat. Die Pikrinpräparate können außerdem durch Zusatz von einigen Tropfen einer kalt gesätt. wäßrigen Lösung von Lithiumkarbonat zu dem Alkohol, mit dem man späterhin die Auswaschung vornimmt, leicht entfärbt werden. Vielfach wird auch Sublimat zum Fixieren gebraucht, das in wässriger oder alkohol. Lösung zur Anwendung kommt. Es fixiert meist vorzüglich die Protoplasmastrukturen, dringt aber sehr schwer in pflanzliche Gewebe ein und verlangt demgemäß eine möglichste Zerkleinerung der zu fixierenden Objekte. Dem Alkohol, mit welchem das Sublimat aus den Geweben weiterhin ausgewaschen wird, pflegt man Jodtinktur zuzusetzen, damit das Jod sich mit dem in den Geweben zurückgebliebenen Sublimat verbindet und dessen Entfernen erleichtert. — Weder Osmiumsäure, Essigsäure, Pikrinsäure, noch Sublimat härten an sich den Zellinhalt, so daß eine Nachbehandlung mit Alkohol unter allen Umständen notwendig ist, um das Objekt schnittfähig zu machen. — Doch hier gilt es, zunächst nur die allgemeinen Eigenschaften der beim Fixieren üblichen Flüssigkeiten hervorzuheben, während für die Einzelheiten bei der Anwendung auf das Register IV und die dort bezeichneten Stellen des Textes verwiesen sei. — Die guten Eigenschaften der einzelnen Fixierungsmittel hat man durch Mischung zu vereinigen gesucht. So kommt es, daß heute weit mehr noch als die einfachen Mittel deren Kombinationen beim Fixieren in Anwendung kommen. Sollen freilich die Eigenschaften aller Komponenten der Gemische gleichmäßig zur Geltung kommen, so müssen diese auch gleichzeitig einwirken. Da sie nun mit verschiedener Schnelligkeit in die Gewebe eindringen, so wird man den vollen Zweck der Mischung nur erreichen können, wenn man durch Zerkleinerung der Objekte diesem Übelstande nach Möglichkeit abhilft. Von den unzähligen Gemischen, die heute als fixierende Flüssigkeiten in Gebrauch sind, sollen hier nur einige der häufiger angewandten als Beispiele herausgegriffen und an ihnen die Technik des Verfahrens erörtert werden. Vor allem ist das als Flemmingsche Lösung bekannte Chrom-Osmium-Essigsäure-Gemisch zu erwähnen. Wir wenden es entweder

in schwächerer oder stärkerer Konzentration an. Im ersten Fall besteht es aus 180 ccm 1-proz. Chromsäure, 25 ccm 2-proz. Osmiumsäure, 12 ccm Eisessig und 210 ccm Aq. dest., im zweiten Fall wird es durch Vermischen von 15 ccm 1-proz. Chromsäure, 2 ccm 2-proz. Osmiumsäure, 1 ccm Eisessig und 10 ccm Aq. dest. hergestellt. Die schwächere Lösung wird vornehmlich für kleinere, die stärkere für größere Objekte benutzt. Da die Osmiumsäure langsamer als die Chromsäure in die Gewebe eindringt, so wird man bei Anwendung von Chrom-Osmium-Gemischen unter Umständen gewisse Verschiedenheiten in der Deutlichkeit der Bilder und nach erfolgter Tinktion in deren Färbungen wahrnehmen, je nachdem man die äußeren oder die inneren Gewebeteile betrachtet. Um möglichst gleichmäßige Fixierungen und weiterhin auch Färbungen zu erlangen, wird es sich daher empfehlen, das Objekt in sehr kleine Stückchen zu zerlegen und auch schwächeren Lösungen den Vorzug vor den stärkeren zu geben. — Für manche Objekte leistet noch bessere Dienste als die FLEMMINGsche Lösung, das MERKELsche Chromsäure-Platinchlorid-Gemisch, das aus 100 Volumt. 1-proz. Chromsäure, 100 Volumt. 1-proz. Platinchloridlösung und 600 Volumt. Wasser besteht. Für noch andere Objekte ist die HERMANNsche Platinchlorid-Osmium-Essigsäure, die 15 Volumt. 1-proz. Platinchloridlösung, 1 Volumt. Eisessig und 2 oder 4 Volumt. 2-proz. Osmiumsäure enthält, vorzuziehen. Auch Platinchlorid in annähernd 1-proz. Lösung wirkt gut. Ebenfalls haben sich Zink- und Eisenchlorid-Gemische zur Fixierung zarter Strukturen sehr bewährt: so das JUELsche Gemisch [1]), 2 g Zinkchlorid, 2 ccm Eisessig und 100 ccm 45- bis 50-proz. Alkohol; man kann bei der Zusammensetzung auch höherproz. Alkohol verwenden. Einwirkungsdauer etwa 24 Std. Nach dem Fixieren folgt Auswaschen in 80-proz. Alkohol und Übertragen in die weiteren Entwässerungsflüssigkeiten. Als Eisenchlorid-Gemisch leistet besonders das von GUIGNARD [2]) empfohlene gute Dienste. Es besteht aus 0,5 ccm offiz. Eisenchlorid, 0,5 g Chromsäure, 2 ccm Eisessig und 100 ccm Wasser. Die in ihm fixierten Objekte werden in mehrfach gewechseltem 30-proz. Alkohol ausgewaschen und dann in der auf Seite 62 und 70 angegebenen Weise weiter zum Einbetten vorbereitet. Oft erweisen sich bestimmte Sublimatlösungen als vorteilhaft, so die HEIDENHAINsche Lösung, die dargestellt wird, indem man eine 0,5-proz. Kochsalzlösung in der Hitze mit Sublimat sättigt [3]), und die KAISERsche, die aus 10 g Sublimat, 3 g Eisessig und 300 g Aq. dest. besteht [4]). Da die Sublimatlösung schlecht eindringt, ist die Injektion der Objekte mit der Luftpumpe bei ihrer Anwendung besonders angezeigt [5]). Daß beim Auswaschen der in Sublimat fixierten Objekte sich Zusatz von Jod zum Alkohol empfiehlt, wurde schon hervorgehoben; man fügt soviel Jod hinzu, bis der Alkohol dunkelbraun erscheint. Dabei ist zu beachten, daß die mit Sublimat fixierten Objekte, solange

[1]) Flora, Bd. XCIII, 1904, S. 56.

[2]) Ann. des Sc. nat., Botanique, 8. sér., T. VI, S. 178.

[3]) Festschr. f. KÖLLIKER, 1892. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. IX, 1892, S. 199.

[4]) Biblioth. Zool., H. VII, 1. Hälfte, 1891, S. 4.

[5]) F. ROSEN in COHNs Beitr. z. Biol. d. Pflanzen, Bd. VII, S. 232.

sie nicht vollständig ausgewaschen sind, nicht mit Stahlpinzetten oder Stahlnadeln berührt werden dürfen. Statt der ganzen Objekte kann man auch Schnitte, und zwar bevor sie in die Farblösungen gebracht werden, der Jodbehandlung unterziehen[1]). — Daß man es in einzelnen Fällen nicht ohne Vorteil versucht hat, den Zellinhalt einfach mit kochend heißem, nicht siedendem Wasser zu fixieren, beweisen bestimmte Veröffentlichungen über Siebröhren, Wurzelspitzen und tierische Objekte[2]). So bezweckt auch, wie bereits erwähnt wurde, die Anwendung der anderen Fixierungslösungen in der Hitze, die Wirkung der hohen Temperaturen zu der des Reagens hinzuzufügen. Auch dringt tatsächlich die heiße Flüssigkeit oft rascher ein, löst auch gewisse Bestandteile des Zellinhaltes auf, die sonst im fixierten Bilde stören. R. A. Harper hat im Bonner botanischen Universitäts-Institut das beste Beobachtungsmaterial von derbwandigen Zygosporen der Sporodinia grandis erhalten, als er sie 2 bis 3 Min. lang in der schwächeren Flemmingschen Lösung kochte und dann noch etwa 12 Std. lang in der Fixierungsflüssigkeit liegen ließ. Eine gute Fixierung derselben Zygosporen erhielt E. Gruber[3]) dadurch, daß er sie in einem vom Rathschen Pikrin-Osmium-Platinchlorid-Essigsäuregemisch (200 ccm gesätt. Lösung von Pikrinsäure, 1 g Platinchlorid in 10 ccm Wasser gelöst, 2 ccm Eisessig, 25 ccm 2-proz. Osmiumsäure), welche im Verhältnis von 1 : 10 verdünnt war, 1 bis 2 Min. lang kochte und dann 12 bis 24 Std. in der Flüssigkeit ließ. D. G. Fairchild hat im Bonner botanischen Universitäts-Institut die inhaltsreichen Dauersporen von Basidiobolus sehr gut fixiert und von ihren störenden Inhaltsmassen befreit durch Anwendung der heißen Sublimat-Eisessiglösung, die Edmund B. Wilson[4]) in kaltem Zustande als besonders gutes Fixierungsmittel für Seeigeleier empfohlen hatte. Diese Lösung besteht aus 80 T. gesätt. Sublimatlösung in Wasser und 20 T. Eisessig. Die Dauersporen werden eine Min. lang in der Lösung gekocht und dann 24 Std. in ihr gelassen. Das Auswaschen mußte sehr sorgfältig in Wasser und in verd. Alkohol mindestens 24 Std. lang fortgesetzt werden. Für die Zygoten von Sporodinia erwies sich diese Behandlung als ungeeignet. Eine halbstündige Einwirkung von kochend-heißer Sublimatlösung mit Eisessig, und zwar 4 T. Eisessig auf 100 T. 83-proz. Alkohol, in welchem Sublimat bis zur Sättigung gelöst war, lieferte L. Ducamp[5]) bei der Fixierung von Araliaceenblüten sehr gute Resultate (vgl. auch Reg. IV Fixierungsmittel). Im übrigen ist stets festzuhalten, daß man für jedes einzelne Objekt erst ausprobieren muß, welches Fixierungsmittel das geeignetste sei.

Gilt es, den protoplasmatischen Inhalt älterer pflanzlicher Zellen, in welchen hoher Turgordruck herrscht, unverändert zu fixieren, so versagen meist die bisher angegebenen Mittel. Am besten kommt man da durch Anwendung von Osmiumdämpfen zum Ziel. Man stellt Schnitte aus freier Hand durch die in Betracht kommenden Gewebe

[1]) R. Pirone, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXI, 1904, S. 179.

[2]) A. Fischer, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., 1885, S. 230, bzw. E. Landau, Sitzber. d. naturf. Ges. Dorpat, Bd. XV, 1906, S. 75 ff.

[3]) Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XIX, 1901, S. 51.

[4]) An Atlas of the Fertilization and Karyokinesis of the Ovum, 1895, S. VI.

[5]) Ann. des Sc. nat., Botanique, 8. sér., T. XV, 1902, S. 319.

her und hält sie mit der Pinzette 5 bis 15 Sek. lang unmittelbar über eine 2-proz. Osmiumsäurelösung. Dann werden die Schnitte in 10-proz. Alkohol gebracht und mit Intervallen von 2 bis 5 Min., später von etwas längerer Dauer, in 15-, 20-, 30-proz. Alkohol und so fort bis zum Alk. abs. übergeführt, in dem sie 12 bis 24 Std. verweilen[1]). Hierauf kann man sie in der einen oder der anderen der später angegebenen Methoden färben und einschließen. — Handelt es sich um Fixierung von Objekten, die in Hohlräumen von Pflanzenteilen sich befinden, wie z. B. Pollenschläuche im Griffelkanal von Lilium-Arten, so kann ein Einspritzen der Fixierungsflüssigkeit gute Dienste leisten. (Näheres im XXIX. Abschn.)

Die Fixierungsmittel, welche wir am häufigsten verwenden, sind: Alkohol, ein Gemisch von 1 T. Eisessig mit 3 T. Alk. abs. nach Carnoy, das Flemmingsche Gemisch und eine mit etwas Eisessig versetzte Sublimatlösung.

Einbettung der Objekte. Sollen die Objekte mit dem Mikrotom geschnitten werden, so müssen sie nach der Fixierung in ein das Schneiden ermöglichendes Medium gebracht werden. Dieses Einbetten besteht nicht in einer einfachen Umhüllung mit jener Substanz, sondern in einer vollständigen Durchtränkung mit ihr. Als allgemeines Einbettungsmedium hat sich bis jetzt nur das Paraffin bewährt. Neben dem Paraffin kann höchstens noch das Zelloidin genannt werden, doch spielt es auf botanischem Gebiet im Verhältnis zum Paraffin eine ganz untergeordnete Rolle. Sonstige Einbettungsmittel kommen nur in besonderen, ganz vereinzelten Fällen zur Anwendung. — Sowohl für Paraffin- wie für Zelloidin-Einbettung müssen die Objekte völlig wasserfrei sein. Lagen sie in Alkohol, so müssen sie aus ihm, falls er nicht schon wasserfrei war, für die Dauer von mindestens 2 Std. in Alk. abs. übergeführt werden. Man hat dafür zu sorgen, daß man wirklich über Alk. abs. verfügt. Es ist oft zu diesem Zwecke nötig, dem käuflichen sogenannten absoluten Alkohol durch Glühen frisch entwässertes Kupfervitriol oder Natriumsulfat[2]) zuzusetzen, das man in Fließpapier einschlägt, damit nicht Teilchen davon in den Alkohol gelangen. — Unter Umständen ist es besser, Objekte, die in starkem Alkohol fixiert waren, vor der Einbettung nicht in Alk. abs. überzuführen, sie vielmehr erst in Wasser ½—2 Std. quellen zu lassen und sie dann durch Alkohol steigender Konzentration, entsprechend der schon (S. 62) angegebenen Reihenfolge, in Alk. abs. überzuführen. — Dieselbe Reihenfolge ist einzuhalten für Objekte, welche etwa in Kampherwasser (vgl. S. 61) aufbewahrt wurden, oder die man frisch mit Säuren oder Säuregemischen fixiert und hierauf ausgewaschen hat. In 95-proz. Alkohol hat das Präparat, in welcher Weise es auch fixiert worden ist, stets mindestens 12 Std. zu verweilen, bevor es in Alk. abs. gelangt. Statt Alkohol ist auch Glyzerin als Entwässerungsmittel vorgeschlagen worden[3]).

Paraffineinbettung. Handelt es sich, wie das gewöhnlich der Fall ist, um das Einbetten in Paraffin, so führt man das Ob-

---

[1]) Nach Bengt Lidforss, Lunds Univ. Årsskr. N. F. Afd. 2, Bd. IV, 1908, S. 8.
[2]) Nach St. v. Apathy, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXIX, 1912, S. 451.
[3]) Vgl. dazu Reg. IV Entwässern.

jekt aus dem Alk. abs. in ein Gemisch von gleichen Teilen Alk. abs. und Chloroform über. In diesem Gemisch, auf dem es zunächst schwimmt, muß das Objekt schließlich untersinken. Es kann unter Umständen ziemlich lange dauern, bis dieses geschieht. Dann aber erst, und nicht früher, darf die Übertragung in reines Chloroform stattfinden. In diesem haben die Gewebestückchen der höher organisierten Gewächse mindestens 24 Std. zu verweilen, während niedere Organismen von geringer Größe oder von lockerem Gefüge schon nach 2 Std. durchtränkt sein können. Dann gelangt das Objekt in eine Glasdose oder in ein Porzellannäpfchen mit Chloroform, dem Paraffinspäne von 52° Schmelzpunkt und ein Zettelchen mit der Bezeichnung des Objekts in Bleistift- oder Tuscheschrift zugefügt werden. Man schließt das betreffende Gefäß jetzt in einen Wärmeschrank, bzw. Paraffinofen (vgl. Fig. 45, 46 und 47, S. 72ff.) ein, der auf ca. 55° erwärmt ist und läßt es dort ein oder zwei Tage, bei schlechter durchdringbaren Objekten auch wohl länger, stehen, bis das Chloroform verdunstet ist, was man durch verschiedentliches Umrühren beschleunigen kann. Dann wird das Objekt in reines, geschmolzenes Paraffin von 52° Schmelzpunkt[1]) übertragen und verweilt darin im Wärmeschrank etwa einen Tag, unter allen Umständen aber so lange, bis es vollständig durchtränkt ist. Nunmehr wird das flüssige Paraffin samt Objekt in ein passendes kleines Gefäß gegossen, etwa ein aus Schreibpapier gefaltetes Kästchen, auch Uhrschalen, bzw. flache, viereckige Porzellanschälchen mit ebenem Boden, die wir vorher erwärmt und mit Glyzerin oder einem Gemisch von gleichen Teilen Glyzerin und Sirup[2]), das besser an der glatten Fläche haftet, ausgestrichen haben.

Es empfiehlt sich, Paraffin von 52° Schmelzpunkt in einem Becherglas im Wärmeschrank bereit zu halten, damit es flüssig zur Verfügung steht. Man setzt dann eventuell von diesem Paraffin zu, um die für eine entsprechende Verteilung der Objekte nötige Paraffinmenge in den Schälchen zu erhalten. Eventuell kann man auch mit solchem Paraffin das Schälchen füllen und dann die Objekte einzeln aus dem Paraffin, in dem sie imprägniert wurden, in dieses neue übertragen. Am besten verwendet man dabei schon oft gebrauchtes Paraffin, da frisches vielfach durch bestimmte Einschlußstoffe an einzelnen Stellen weißlich, trübe, oft auch blasig erscheint und sich nicht gut schneiden läßt. Gut schneidefähiges Paraffin erhält man auch, wenn man das käufliche mindestens eine Woche lang in flachen Porzellanschalen bei 70—80° C im Wärmeschrank hält, es zweckmäßig einige Male durch gehärtetes Fließpapier filtriert, mehrmals langsam erkalten und wieder aufschmelzen läßt, bis auch ein größeres Quantum, an der Luft erstarrt, keine weißen, flockigen Stellen mehr aufweist[3]). Die Brauchbarkeit dieses Paraffins kann man noch dadurch erhöhen, daß man ihm 5% gelbes Wachs zusetzt[4]).

In dem Paraffin sucht man nun den Objekten die gewünschte Lage zu geben und verteilt sie, wenn sie in Mehrzahl vorhanden sind, entsprechend in ihm, wobei man dafür zu sorgen hat, daß das Paraffin

[1]) Für manche Objekte empfiehlt sich Paraffin von niedrigerem oder höherem Schmelzpunkt.

[2]) Nach mündlicher Angabe von P. SCHIEFFERDECKER.

[3]) Nach B. FARKAS, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXX, 1913, S. 168.

[4]) Nach G. C. VAN WALSEM, Ebenda, Bd. XXXIII, 1916, S. 29.

nicht zu schnell erkaltet. Dazu stellt man das zweckmäßig vorher erwärmte Einbettungsschälchen auf eine warme Unterlage, z. B. den Wärmeschrank, bzw. die auf S. 77, Fig. 51 angegebene Vorrichtung und ordnet mit angewärmten Nadeln die Objekte möglichst schnell. Kleinere, durchsichtige Objekte, bei denen es besonders darauf ankommt, sie in die richtige Stellung zum Messer zu bringen, lassen sich dabei leichter orientieren, wenn man sie durch Vorbehandlung mit einem Farbstoff, z. B. GRENACHERschem Borax-Karmin, Alaunkarmin oder Parakarmin, hervorhebt. Man läßt dazu die Objekte einige Stunden in einer Lösung des Farbstoffs in 85-proz. Alkohol, um sie dann in gewohnter Weise in Paraffin zu überführen[1]). Sind die gut durchtränkten Objekte im Schälchen orientiert, so bringt man das Paraffin zum Erstarren. Zu dem Zweck hält man das Schälchen eine Zeitlang in Wasser von Zimmertemperatur, während man über die Oberfläche des Paraffins bläst. Sobald eine feste Haut entstanden ist, läßt man es untersinken. Die Paraffintäfelchen lösen sich bald heraus; man kann mit einem Messer, welches man zwischen Wand und Paraffin an einer Schmalseite einschiebt, das Ablösen beschleunigen. — Wünscht man zahlreiche Objekte im Schälchen zu ordnen, so bedient man sich am besten einer leicht herzustellenden „Einbettetrommel"[2]) (vgl. Fig. 43), einer flachen Dose aus Kupferblech, in welche zwei Rohre münden. Durch das unten einmündende Rohr wird das Wasser von der Wasserleitung her zugeleitet. Das obere Rohr dient zum Abfluß. Zunächst wird die wassergefüllte Trommel, die sich auf einem Dreifuß befindet, auf 60° erhitzt. Ein mit Glyzerin ausgeriebenes Einbetteschälchen wird daraufgestellt; sodann werden die mit den Objekten gefüllten Paraffinnäpfchen ausgegossen. Nach Ordnung der Objekte mit erwärmten Nadeln wird der Wasserhahn geöffnet; die Trommel erkaltet, das Paraffin erstarrt. Die herausgelösten Paraffinplatten zerteilt man zum Schneiden in kleine Würfel oder in rechteckige Säulen, was ohne Schädigung des Objekts am besten auf dem Wege zu erreichen ist, daß man mit einem Skalpell auf der Objektseite die Grenzen nicht zu tief einritzt, wonach sich die einzelnen Stücke leicht auseinander brechen und zum Schneiden am Mikrotom zurichten lassen.

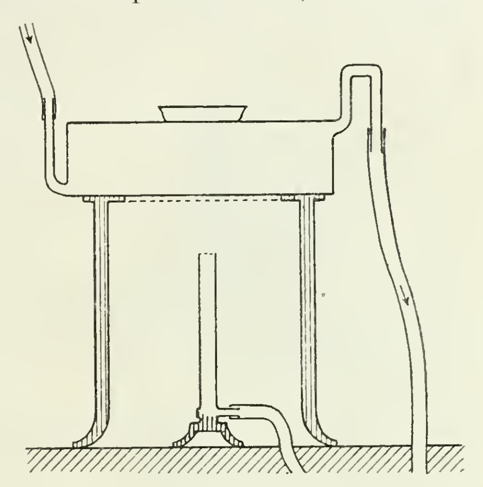


Fig. 43.
Einbettetrommel mit Einbetteschälchen.

[1]) J. C. SCHOUTE, Die Stelär-Theorie, Groningen 1902, S. 49. Ferner J. SMOLAK, Bull. internat. de l'Acad. d. sc. de BOHEME, Vol. IX, 1904, und H. BRAUN, Arch. f. Zellforsch., Bd. III, 1909, S. 451. Über Einbettung u. Orientierung kleiner bzw. durchsichtiger Objekte vgl. XIX. Abschn. bei Spirogyra, im XXII. Abschn. bei Einbettung von Fucus-Eiern; ferner Reg. IV Einbetten.

[2]) H. SIEBEN, Einführung in die bot. Mikrotechnik, 2. Aufl., 1920, S. 30.

Diese werden weiterhin mit einem erhitzten kleinen Spatel einem größeren Paraffinblock, oder einem entsprechend zugeschnittenen Korken oder Holzklötzchen aufgeschmolzen. Die Klötzchen müssen eine Stärke haben, wie sie für eine gute Befestigung in der Klammer des Mikrotom-Objekthalters erforderlich ist, und eine Höhe besitzen, wie sie zum bequemen Schneiden wünschenswert erscheint. Wir benutzen in der Regel so gut wie nicht quellende Erlenholzklötzchen von 25 mm Höhe, 20 mm Breite und 15 mm Dicke, durch welche, dem das Paraffinwürfelchen aufnehmenden Ende genähert, der Breite nach ein 5 mm dickes Bleidrahtstück durchgezogen ist (Fig. 44). Bringt man diese zum Abkühlen bzw. Erstarrenlassen der aufgeschmolzenen Paraffinstückchen in Wasser, so senkt sich die Präparatenseite sofort abwärts und bleibt unter Wasser, während die nicht mit einer Beschwerungsvorrichtung versehenen Blöckchen bis zum vollständigen Erkalten mit der Hand oder sonstwie untergetaucht gehalten werden müssen. Das Messer hat eine Seite des rechteckigen Paraffinstückchens, welches das Objekt enthält, genau parallel zu treffen. Soll aber, was bei so eingebetteten Präparaten nur ganz ausnahmsweise geschieht, nicht mit quer, sondern mit schräg gestelltem Messer geschnitten werden, so gibt man dem das Objekt enthaltenden Paraffinstückchen die Gestalt eines dreiseitigen Prismas und sorgt dafür, daß die vom Messer zunächst getroffene Seite zu dessen Schneide parallel gerichtet sei.

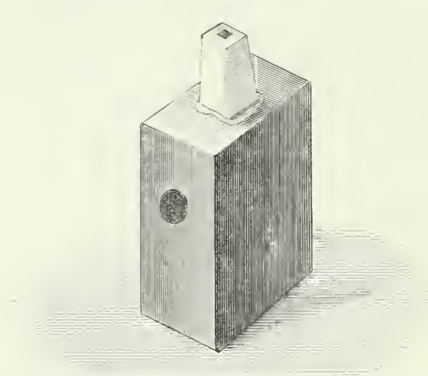


Fig. 44. Holzklötzchen mit aufgeschmolzenem, das zu schneidende Objekt enthaltendem Paraffinblöckchen.

Die Übertragung aus Alkohol in Paraffin durch Vermittlung von Chloroform hat sich für unsere Zwecke außerordentlich bewährt. Doch ist auch die Vermittlung von X y l o l zu empfehlen. Aus dem Alk. abs. kommen die Objekte alsdann auf 2 bis 3 Std. in ein Gemisch von gleichen Teilen Alkohol und Xylol, dann in reines Xylol, wo sie verweilen, bis das Präparat durchsichtig geworden ist; dann auf 6 Std. in eine bei Zimmertemperatur gesättigte Lösung von Paraffin von 52° Schmelzpunkt in Xylol, dann auf 3 bis 6 Std. in einen 55 bis 58° warmen Paraffinofen; endlich in reines Paraffin von 52° Schmelzpunkt. — Bei besonders zarten Objekten muß man zu verhindern suchen, daß die am Boden liegenden Objekte sofort mit der nach dem Zufügen des Paraffins dort durch dessen schnelles Untersinken im Xylol entstehenden dichten Xylol-Paraffin-Schicht in Berührung kommen. Man biegt zu dem Zweck ein Stück Drahtgaze derart, daß es ein Gerüst über den Objekten bildet, fügt soviel Xylol zu, daß es 1 bis 2 mm über dem Gerüst steht und füllt Stückchen von Paraffin darauf[1]). Dann verschließt man das Gefäß und läßt es ungestört

[1]) Nach dem Vorschlag von W. J. G. LAND, Microtechnical Methods, Bot. Gaz. Vol. LIX, 1915, S. 397; ferner Derselbe, ebenda, Vol. LXI, 1916, S. 253; dagegen D. M. MOTTIER, ebenda, 1916, S. 251, der dem Chloroform den Vorzug gibt.

so lange stehen, bis eine gleichmäßige Lösung des Xylol-Paraffins erreicht ist, worauf man es auf den Ofen und später in ihn stellt. Nach einiger Zeit gießt man vorsichtig durch das Drahtnetz das Xylol-Paraffin ab, worauf der Behälter wieder mit Paraffinstückchen aufgefüllt wird. — Auch Benzol hat sich beim Übertragen in Paraffin sehr bewährt. Die Objekte werden da zunächst in eine Mischung von 2 Teilen Alkohol und 1 Teil Benzol gebracht, sodann in eine solche von 1 Teil Alkohol und 2 Teilen Benzol und schließlich in reines Benzol übergeführt. In jeder dieser Lösungen verbleiben die Objekte 24 Stunden. Nachdem das Benzol erneuert ist, wird langsam klein geschnittenes Paraffin zugegeben. — A. B. Lee[1]) tritt ganz besonders für Zedernholzöl ein. Die Übertragung vermittels dieses Mediums hat zugleich den Vorzug großer Einfachheit. Zur Verwendung kommt jetzt meist das verdickte, nicht das gewöhnliche, in der Preisliste oft mit der Bemerkung „zum Aufhellen" versehene Zedernholzöl. Man füllt in einen kleinen Zylinder etwas Zedernholzöl ein und gießt vorsichtig Alk. abs. darauf. Das Objekt wird aus Alk. abs. nunmehr in den über dem Zedernholzöl befindlichen Alkohol übertragen; allmählich sinkt es in das Zedernholzöl ein. Dann wird der Alkohol langsam von dem Zedernholzöl wieder abgegossen und das Objekt entweder in ein Gemisch von halb Zedernholzöl und Paraffin für ½ Std. und dann in reines Paraffin. oder auch gleich in reines Paraffin übertragen. Von diesem ist es nach etwa 3 Std. schon imprägniert und nach der Abkühlung zum Schneiden fertig. Will man besonders vorsichtig verfahren, so bringt man die zu durchtränkenden Objekte aus dem Zedernholzöl in ein Gemisch von Paraffin und Zedernholzöl, dann in reines Paraffinöl, darauf wird erst die Überführung in geschmolzenes Paraffin vorgenommen[2]). — Nach einer anderen sehr brauchbaren Methode wird das Objekt aus dem Alk. abs. zunächst in gleiche Teile Alk. abs. und Zedernholzöl auf 2 Std., dann auf ebensolange in ein Gemisch von 1 Teil Alk. abs. und 3 Teilen Zedernholzöl, dann in gebrauchtes, d. h. früher schon einmal zu gleichen Einbettungszwecken benutztes Zedernholzöl für 24 Std. und schließlich in reines Zedernholzöl für ebenfalls 24 Std. gebracht, sodann kommt es in geschmolzenes Paraffin von 52° in den Wärmeschrank. Das Paraffin muß weiter noch einmal gewechselt werden.

Außer Chloroform, Xylol, Benzol und Zedernholzöl werden noch eine große Zahl von Medien zur Vermittlung beim Überführen der Objekte in Paraffin empfohlen, so Terpentinöl, Nelkenöl, Bergamottöl, Kreosot, Petroläther, Anilin, schließlich noch Toluol bzw. Methylsalizylat[3]).

Hat man den Wunsch, sich schnell über den Entwicklungszustand eines Objektes zu orientieren, bei dem Quetschpräparate oder Rasiermesserschnitte nicht zum Ziel führen, so schlägt man zweckmäßig ein Schnell-Einbettungsverfahren (vgl. auch Reg. IV) ein, wie es z. B. im Bonner Universitäts-Institut vom Techniker H. Sieben ausprobiert und als sehr brauchbar befunden wurde. Man fixiert die Objekte morgens früh mit Alkohol-Eisessig. Nach 2 bis 3 Std.

[1]) A. B. Lee u. P. Mayer, Grundzüge d. mikrosk. Technik, 4. Aufl., 1910, S. 83.
[2]) H. O. Juel, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXV, 1900, S. 630.
[3]) Vgl. L. Ducamp, Ann. sc. nat., 8. sér., Bot. T. XV, 1902, S. 319.

wäscht man sie mit mehrfach erneuertem Alk. abs. aus, stellt die im letzten Alk. abs. befindlichen Objekte für $1\frac{1}{2}$ bis 2 Std. in einem verschlossenen Gefäß in den Wärmeschrank. Hierauf ersetzt man den Alk. abs. durch Alkohol und Chloroform und läßt die Objekte 2 bis 3 Std. (über Mittag) zugedeckt im Wärmeschrank. Hierauf überträgt man, ebenfalls im Wärmeschrank, in Chloroform, dem man schon nach 1 Std. die ersten Paraffinspäne (am besten einer Mischung von 45° und 52° Schmp.) hinzufügt. Über Nacht läßt man das Chloroform verdunsten und überträgt am nächsten Morgen in reines Paraffin. Nach 2 Std. sind dann die Objekte schneide- und färbefähig. Bei Fixierung mit Flemmings Gemisch dauert das Schnell-Einbettungs-Verfahren wegen der Entwässerungsprozedur in den verschieden-prozentigen Alkoholen entsprechend länger.

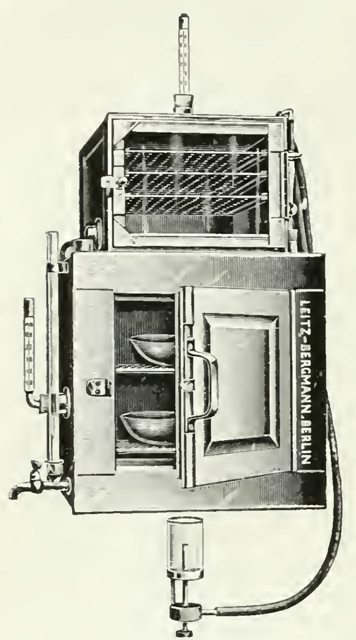


Fig. 45. Paraffineinbettungsapparat nach Hertwig mit Gasheizung.

Als Paraffinofen kann jeder doppelwandige, meist als Trockenapparat bezeichnete Wärmeschrank dienen. Der Raum zwischen seinen Wandungen wird mit Wasser gefüllt, in welches ein Thermoregulator taucht, der den Gaszufluß zu den unter dem Apparat befindlichen Flammen reguliert. Einen Paraffineinbettungsapparat bewährter Konstrution, den die Fig. 45 darstellt, liefert *Leitz*-Berlin (Katalog-Nr. 975—978). Der Schrank ist aus Kupfer hergestellt, mit einer Isolierschicht bekleidet und Thermometer, Thermoregulator und Mikrobrenner versehen. Die Temperatur kann auf 45° bis 60° eingestellt werden, am Boden des Aufsatzes beträgt die Temperatur 42° bis 48°, im Aufsatz 32° bis 36°. *Gerhardt*-Bonn stellt einen Paraffineinbettungsapparat nach Hertwig her, der elektrisch geheizt wird. Als Material hat Kupfer mit Linoleumbekleidung Verwendung gefunden. Kontaktthermometer, Schaltung und Widerstand werden mitgeliefert. Es lassen sich dieselben Temperaturen wie in dem Paraffinofen von *Leitz* erzielen. Bei den Konstruktionen Nr. 1023—1043 von *Leitz*-Berlin geschieht die Heizvorrichtung durch Heizpatronen, die am Boden des Schrankes im Wasserraum untergebracht sind. Diese Paraffineinbettungsapparate werden auch mit Glastür geliefert. Die Nummern 1053 bis 1060 dieser Firma sind mit Glühlampenheizung und elektrischem Thermoregulator ausgestattet. Viel verwendet werden auch die Trockenschränke. Die Fig. 47 führt den Trockenofen Nr. 7123 e der Firma *Leitz*-Berlin vor, der mit Doppeltür versehen und mit Thermoregulator und Mikrobrenner ausgestattet ist. Der Apparat wird auch mit elektrischer Heizung angefertigt (Fig. 46).

In den Fällen, wo es besonders darauf ankommt, daß der vor der Überführung in reines Paraffin verwendete, flüchtige Durchdringungsstoff (Chloroform, Xylol usw.) aus dem Paraffin vollständig verschwindet, ferner jede Blasenbildung ausgeschlossen ist, somit eine für das Schneiden besonders günstige homogene Konsistenz des Paraffins erlangt wird, ist es von Vorteil, die Paraffineinbettung im Vakuum[1]) vorzunehmen. Dazu gebraucht man die verschiedentlich angegebenen Thermostaten, in welchen ein Evakuierungsgefäß eingelassen ist. Ein solcher Apparat wird z. B. von der mechanischen Werkstätte von *Gust. Eger*-Graz angefertigt. Dieser Fuhrmannsche „Universal-Paraffineinbettungsthermostat" besteht im wesentlichen aus 2 Teilen: dem eigentlichen Wärmekasten aus Kupfer und dem oben eingesetzten, gläsernen Luftverdünnungsgefäß. Dieses hat einen auf den nach außen vorspringenden Rand aufgeschliffenen Glasdeckel, der nach oben gewölbt ist und zwei tubusartige Ansätze trägt. Diese dienen zur Aufnahme des Thermometers, das in einen durchbohrten Gummistopfen luftdicht eingesetzt ist, und des Evakuierungsansatzes, welcher zwei seitliche, mit Gashähnen verschließbare, für das Anbringen der Luftpumpe und die Luftzuleitung bestimmte Rohransätze trägt und nach oben in ein geschlossenes Quecksilbermanometer übergeht. Durch Linoleum kann der Einsatz bedeckt werden. Bei einer solchen Einrichtung ist dauernd eine leichte Kontrolle der im Innern des Gefäßes stattfindenden Vorgänge ermöglicht, ohne daß die Temperatur durch die Herausnahme des Gefäßes sich ändern würde oder die Evakuierung unterbrochen werden müßte. Im unteren Teil des Thermostaten befindet sich ein Hohlraum, der von außen durch Doppeltüren zugänglich ist und die Anwendung des Apparats auch für alle anderen Paraffineinbettungs-Methoden gestattet. Die Einbettung im Vakuum nimmt man folgendermaßen vor: Nachdem die Objekte aus dem Alk. abs. in Xylol o. ä. übertragen worden sind, werden sie vorgewärmt, indem sie auf den Deckel des Apparates gestellt werden, und so auf ungefähr 40° C gebracht. Hierauf hebt man den ganzen Glaseinsatz an einem Tubus heraus, was deshalb ohne Gefahr möglich ist, da als Dichtungsmittel sehr zähes, gewöhnliches Lanolin benutzt ist, das bei einer Temperatur von 58—60° C, wie sie in dem Apparat vorhanden ist, nicht schmilzt. Nach Abheben des Deckels werden die Objekte in das Paraffin übertragen, das in kleinen Dosen im Einsatzgefäß immer bereit steht. Man verschließt nun das Einsatzgefäß, schließt ferner den Luftzuleitungshahn

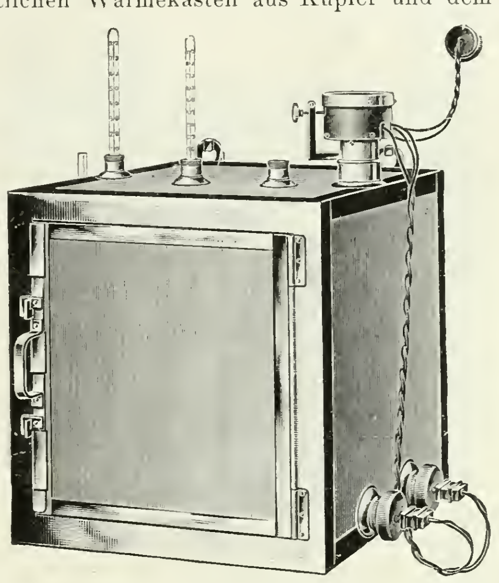


Fig. 46. Trockenofen mit elektrischer Heizvorrichtung als Paraffineinbettungsapparat.

[1]) F. Fuhrmann, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXI, 1904, S. 462.

und öffnet den Hahn zur Pumpe. Im allgemeinen evakuiere man nicht über 40 mm Quecksilber. Steigen keine Blasen mehr aus dem Objekt auf, so stellt man die Pumpe ab, läßt sehr langsam Luft einströmen und nimmt dann aus dem Einsatzgefäß die Dose mit den Objekten zur weiteren Behandlung heraus. Auch für sonstige Einbettungen bietet dieser Apparat Vorteile, weil man in ihm durch kurzes Evakuieren ein Paraffin gewinnen kann, das außerordentlich homogen und geschmeidig ist und sich besonders gut schneiden läßt. — Eine sehr einfache Methode zur Paraffineinbettung im Vakuum gibt W. Berg[1]) an. Er führt durch eine der in der oberen Wand der Paraffinöfen angebrachten Öffnungen einen dickwandigen Gummischlauch, der durch einen passend durchbohrten Kork gegen die Wand der Öffnung abgedichtet ist. An seinem freien Ende im Innern des Ofens trägt dieser Schlauch ein Stück Glasrohr, dem ein Gummistopfen aufsitzt, mittels dessen ein zur Aufnahme der Präparate bestimmter Glaskolben verschlossen ist. Das andere Ende des Gummischlauchs wird an eine einfache Wasserstrahlluftpumpe angeschlossen. Um ein Rückschlagen des Wassers zu verhindern, schaltet man zweckmäßig in die Schlauchleitung eine Flasche mit doppeltem Halse ein. Beim Gebrauch bringt man die Präparate in den Glaskolben, und zwar mit einer nicht zu großen Menge Paraffins, damit dieses nicht etwa beim anfänglichen Schäumen in das Glasrohr bzw. den Gummischlauch hineingerät, schließt mit dem Gummistopfen dicht ab und pumpt bis zur vollständigen Durchtränkung der Objekte aus.

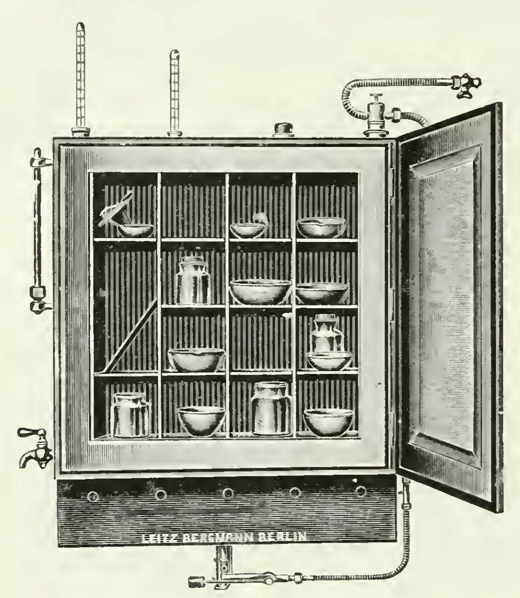


Fig. 47. Trockenofen mit Gasheizung.

Einzelschnitte und Schnittbänder. Bei schräger Stellung des Messers werden nur Einzelschnitte hergestellt. Bei Querstellung des Messers stoßen die aufeinanderfolgenden Paraffinschnitte zusammen und verkleben mit ihren Kanten zu einem fortlaufenden Bande. Ist das Messer richtig orientiert und scharf, so dürfen die Schnitte nicht zusammengepreßt werden, d. h. sie müssen annähernd den Querdurchmesser behalten, welchen das Paraffinstückchen zeigt. Falls die Schnitte sich aufrollen, so hängt das mit der zu großen Härte des Paraffins, zu großer Dicke der Schnitte, oder mit beiden Ursachen zusammen. Im allgemeinen gleitet das Band gut auf der Messerfläche fort, bei kleinen Störungen hilft man mit einer an ihrem Ende umgebogenen (Fig. 48), oder einer halb lanzettförmigen Nadel (Fig. 49) nach. Die umgebogene Nadel dient dann auch zum Abnehmen der

[1]) Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXVI, 1909, S. 209.

Bänder, die mit einem sehr schmalen Skalpell (Fig. 50) in entsprechend lange Stücke zerlegt werden[1]). Es ist sehr erwünscht, über große Deckgläser zu verfügen, um das Band nicht in zu kurze Abschnitte zerlegen zu müssen. Sollte das Band sich etwas gewellt haben, so legt man es über den Rücken der Hand und zieht es mit der anhaftenden Nadel an dem einen Ende an. Die Wärme der Hand und die kleinen Widerstände auf ihr genügen, eine Gradsteckung des Bandes zu ermöglichen.

Um das Rollen und Bröckeln der Schnitte, das im wesentlichen auf den mit der umgebenden Temperatur im Zusammenhang stehenden Wechsel der Paraffinhärte zurückzuführen ist, zu vermeiden, wendet man den schon (S. 49) genannten Schnittstrecker an. In manchen Fällen hilft auch ein leichtes Erwärmen des Messers durch Heranführen einer Spiritusflamme an das Ende der Klinge oder auch Anhauchen der oberen Fläche des Blöckchens vor jedem Schnitt. Versagen alle diese Mittel, so drücke man ein zwischen den Fingern durch Pressen hergestelltes, dünnes Plättchen Paraffin von der Größe der Schnittfläche des Paraffinblocks auf diese auf[2]). Nach einiger Übung wird man bald die richtige Druckstärke zur Erzielung einer innigen Adhäsion finden. Hat man die Platte gut aufgedrückt, so bleibt nach dem Durchgang des Messers der Schnitt glatt auf deren Unterseite kleben. Man kann dann beides zusammen mit dem Finger auf den mit Klebestoff bestrichenen Objektträger übertragen und festdrücken. Das zeitraubende und meist nur unvollkommen durchführbare Glätten des Schnittes mit einer Nadel o. ä. fällt damit fort. Man kann hier und da auch zum Ziel kommen, wenn man statt des Paraffinplättchens ein Seidenpapierstückchen der Schnittfläche andrückt oder diese mit einer dünnen (1-proz.) Zelloidinlösung bestreicht, der zweckmäßig etwas Rizinus- oder Zedernholzöl, 5 Tropfen auf 100 ccm, zugesetzt wird. Auch Mastix, in Äther gelöst, leistet gute Dienste und ist sowohl bei Paraffin, als auch bei der kombinierten Zelloidin-Paraffinmethode (vgl. S. 84) verwendbar[3]).

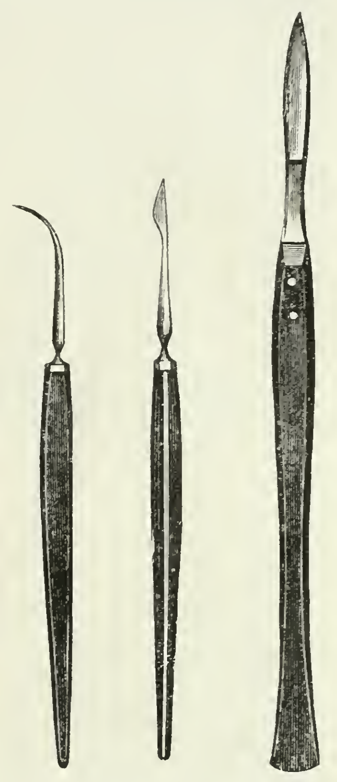


Fig. 48. Fig. 49. Fig. 50.
Fig. 48 und 49 Nadeln, Fig. 50 schmales Skalpell.

Um Material, das bei der Einbettung spröde geworden ist, wie solches, das viel Stärke enthält, schneidefähig zu machen, bringt man das in Paraffin eingeschlossene Material für einige Wochen oder Monate

[1]) Der Preis für Präpariernadeln beträgt ungefähr 20, für Skalpelle etwa 35 M.
[2]) Nach A. Siding, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXII, 1905, S. 177.
[3]) Vgl. A. Böhm und A. Oppel, Taschenbuch der mikroskopischen Technik, 8. Aufl., 1919.

in Wasser[1]). Da das Paraffin wasserdurchlässig ist, werden die Objekte in den meisten Fällen dann gut zu schneiden sein.

Aufkleben der Paraffinschnitte. Es gilt nunmehr, die Schnitte bzw. Schnittserien auf dem Objektträger[2]) zu befestigen. Wir tun das entweder mit Wasser[3]) oder mit Eiweiß-Glyzerin[4]), oder wir kombinieren beide Verfahren. — Staubfreies Wasser wird in einer flachen Porzellanschale ein wenig erwärmt und die Schnitte mit der Nadel darauf gelegt. Sie breiten sich auf dem Wasser sehr schön aus und werden mit untergeschobenem Objektträger herausgehoben. Von Vorteil ist es, wenn man dem vorher erwärmten Wasser einen Tropfen Zedernholzöl zusetzt[5]), der sofort in dünner Oberflächenschicht zerfließt, und dann erst die Schnitte darauf bringt. Auch kann man so verfahren, daß man das Wasser auf den mit einem reinen, trockenen Tuch vorher gut gesäuberten Objektträger bringt, den man, um eine stets gleichmäßige Verteilung des Wassers zu erzielen, vorher, mit der zu beschickenden Seite nach unten, etwa zwei- bis dreimal leicht durch die Flamme eines Bunsenbrenners gezogen hat[6]). Auf diese Wasserschicht bringt man die Paraffinschnitte. Auch hierbei ist es vorteilhaft, vor dem Auflegen der Schnitte etwas Zedernholzöl auf das Wasser zu bringen. In oder auf den Wärmeschrank gebracht, glätten sich diese und werden mit zunehmender Verdunstung des Wassers auf dem Objektträger fest angeklebt. Sollten sie nicht auf der Glasfläche haften, so liegt das meist daran, daß die Reinigung des Objektträgers nicht gründlich genug vorgenommen wurde. Am sichersten geht man, wenn man die Objektträger in fließendem Wasser mit einer guten Kaliseife zwischen beiden Handflächen wäscht, wodurch gleich beide Seiten des Objektträgers gereinigt, insbesondere entfettet werden[7]). Auch kann man die Reinigung der Objektträger in der Weise vornehmen, daß man diese für einige Zeit in verdünnte Salzsäure bringt, dann gut abspült, in ca. 90-proz. Alkohol überträgt und mit einem weichen, oftmals gewaschenen Läppchen oder auch über einer Flamme trocknet. Das Paraffin wird hierauf mit Terpentin oder Xylol fortgelöst, während die Objektschnitte an dem Objektträger haften bleiben. Sollte das Paraffin vorher schon erstarrt gewesen sein, so kann man vor der Behandlung mit dem Lösungsmittel den Objektträger noch einmal leicht bis zum Schmelzen des Paraffins erwärmen. — Meist geschieht die Befestigung auf dem Objektträger mit Eiweiß-Glyzerin, einem Gemisch von gleichen Teilen Eiweiß und Glyzerin[8]). Es empfiehlt sich, die Lösung zu filtrieren. Sie hält sich, wenn man ein Kampherstückchen hineinlegt, bzw. vor dem Filtrieren einen Tropfen Karbol oder Thymol hinzufügt, unbegrenzt. Man

[1]) Nach W. J. G. Land, Bot. Gaz., Vol. LIX, 1915, S. 401.

[2]) Die Schnitte auf den Deckgläsern zu befestigen, ist nicht empfehlenswert. Beim Auflegen auf den Objektträger muß die Deckglasgröße berücksichtigt werden; man benutzt dabei mit Vorteil als Unterlage ein weißes Papier, auf welches der Deckglasumriß gezeichnet ist.

[3]) Vgl. G. L. Gulland, Journ. of Anat. and Phys., Vol. XXVI, 1891, S. 56.

[4]) Im wesentl. nach P. Mayer, Mitt. d. Zool. Stat. Neapel, Bd. IV, 1883, S. 521.

[5]) Nach J. Salkind, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXIX, 1912, S. 542.

[6]) Nach K. Helly, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXIII, 1906, S. 330.

[7]) Nach J. F. Gudernatsch, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXIV, 1907, S. 357ff.

[8]) Von P. Mayer zuerst vorgeschlagen. Mitt. a. d. Zool. Station zu Neapel Bd. IV, 1883, S. 521.

trägt sie nur in sehr geringer Menge dem Objektträger auf und verreibt sie glatt mit dem Finger, so daß sie auf dem Objektträger eine unmerkliche Schicht bildet. Die Schnitte werden nun aufgelegt und mit einem trockenen Pinsel oder dem trockenen Finger oder einem staubfreien Läppchen angedrückt. Hierauf erwärmt man den Objektträger vorsichtig über einer Flamme, bis das Paraffin zu schmelzen beginnt. Das Paraffin wird dann, so wie in dem anderen Falle, mit Terpentin oder Xylol entfernt. — Die Kombination beider Methoden, die wir unter normalen Verhältnissen gewöhnlich anwenden, und die sich ausgezeichnet bewährt, besteht darin, daß man Eiweiß-Glyzerin auf dem Objektträger verreibt und darauf eine geringe Menge warmes Aq. dest.

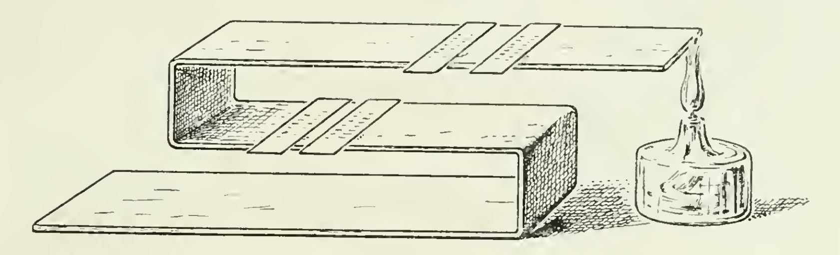


Fig. 51. Wärmebank. Ca. 1/3 nat. Gr.

gießt. Dann läßt man die Schnitte auf diesem Wasser, das man eventuell noch schwach erwärmt, schwimmen, ordnet sie, saugt das Wasser mit Fließpapier ab, trocknet sie an der Luft oder auch in dem Paraffinschrank. Will man die Objektträger über der Flamme[1]) erwärmen, so kann man ein zweimal rechtwinklig gebogenes Eisenband (Fig. 51) benutzen. Je nachdem wir schneller oder langsamer die Wärme wirken lassen wollen. wählen wir die Entfernung von dem erhitzten Endteil. Eine elektrisch heizbare Wärmebank wird von *Rohrbeck*-Berlin und *Gerhardt*-Bonn hergestellt. — Eine weitere Kombination des Eiweiß- mit dem Wasser-Aufklebeverfahren, das sich selbst dann, wenn die Schnitte sehr groß und dünn sind und viele einzelne Gewebestückchen enthalten, gut bewährt hat, wird in folgender Weise durchgeführt. Die Schnitte gelangen in eine Schale ca. 45° C warmen Wassers, wo sie sich ausbreiten und werden dann mit einem Objektträger herausgehoben, von dem man mit Fließpapier das überschüssige Wasser entfernt. Man drückt nun ein Stückchen glatten Schreibpapiers fest auf den die Paraffinschnitte tragenden Objektträger und zieht das Papier, an dem die Schnitte nun festhaften, vorsichtig ab. Nachdem das über die Schnitte hervorstehende Papier weggeschnitten worden ist, wird der übrigbleibende Teil mit der Seite, welche die Schnitte trägt, einem vorher mit Eiweiß-Glyzerin bestrichenen Objektträger aufgedrückt und dieser zur Koagulation des Eiweißes eine kurze Weile über die Flamme gehalten, wobei es nichts schadet, wenn das Paraffin etwas

[1]) Nach M. Duval, Journ. de l'Anat. et de la Physiol., T. XXVII, 1891, S. 26.

schmilzt. Bringt man den Objektträger in Xylol, so fällt das Papierstückchen bald ab und es bleiben auf der Glasplatte die ganz glatt und fest aufgeklebten Schnitte zurück[1]). Noch manch andere Mittel und Wege zur Befestigung der Paraffinschnitte auf den Objektträgern sind in den letzten Jahren empfohlen worden. So verwenden wir mit gutem Erfolg Gummi arabicum mit Kaliumbichromat, und zwar in folgender von W. J. G. Land[2]) angegebenen Weise. Wenige Tropfen einer 1-proz. Gummi arabicum-Lösung lassen wir auf einem gut gereinigten Objektträger sich verbreiten. übergießen dann mit Wasser, das durch ein wenig, etwa 0,2 Prozent, Kaliumbichromat leicht gelb gefärbt wurde. Die Bänder werden in der Wärme auf dem so vorbereiteten Objektträger ausgebreitet, die überschüssige Flüssigkeit abgesogen und das Präparat ans Licht zum Trocknen gelegt. Eine sehr kurze Exposition im Licht genügt, das Gummi unlöslich in Wasser zu machen. Nachdem die Präparate durch und durch trocken geworden sind. werden sie in der gewohnten Weise weiter behandelt. Wenn eine große Zahl von Präparaten hergestellt werden soll, mischt man — am besten unmittelbar vor dem Gebrauch, da die Mischung sich nicht hält — die Gummi arabicum- und Kaliumbichromat-Lösung und übergießt die Objektträger mit dieser Mischung. Beim Trocknen etwa auftretende Kaliumbichromat-Kriställchen stören weiter nicht, da sie nie in den Schnitten selbst auftreten, sondern daneben als kaum sichtbare Fleckchen auf dem Glas zurückbleiben. Auch das Eiweißfixativ wirkt viel besser, wenn man statt Wasser die Kaliumbichromat-Lösung verwendet. Ch. H. Shattuck[3]) verwendet ein Gemisch von 40 T. Leim, 10 T. Wasser und 50 T. Glyzerin, das in gleicher Weise wie Eiweiß-Glyzerin in Anwendung gebracht wird. Ein Ablösen von Schnitten stellt sich, falls es geschieht, meist dann ein, wenn die Präparate aus dem starken zum Abspülen des Paraffinlösungsmittels verwendeten Alkohol in schwächeren oder in Wasser bzw. in wasserhaltige Farblösungen übertragen worden sind. Die Ablösung kann man jedoch verhindern, wenn man die Präparate aus dem starken Alkohol in eine Lösung von Zelloidin (offizinelles, nicht vicinatum) 20 T., Äther 40 T., Alk. abs. 40 T. bringt, nach ½ bis 2 Min. herausnimmt, gut abtropfen läßt und sie, ohne sie trocken werden zu lassen, in 70-proz. oder 80-proz. Alkohol überträgt. So wird ein zusammenhängendes, sehr zartes, vollkommen durchsichtiges, am Glase haftendes Häutchen gebildet, welches die Schnitte schützt, und die Präparate können alle bei den Färbungsmethoden üblichen Manipulationen durchmachen, ohne daß sich die Schnitte vom Objektträger lösen. Mittels Alk. abs. kann man zum Schluß das Kollodiumhäutchen entfernen[4]).

Zum Aufkleben der Mikrotomschnitte auf Papier (vgl. S. 42, dort auch Literaturnachweis) verwendet man am besten eine Zelloidin-Rizinusöl-Klebemasse, die aus 1 T. Zelloidin-Normalsirup (vgl. Reg. IV) und 1 T. Rizinusöl besteht, und, wenn sie zu zähe geworden ist, mit Äther-Alkohol verdünnt werden muß. Die Oberseite der Papierstreifen wird mit dieser

[1]) H. Michaelis, Zentralbl. f. allgem. Pathol. und pathol. Anat., Bd. XIV, 1903, S. 264.

[2]) W. J. G. Land, Bot. Gaz., Vol. LIX, 1915, S. 398.

[3]) Bot. Gaz., Vol. XL, 1905, S. 209 ff.

[4]) Nach den Angaben von C. Regaud, Bibliogr. Anat., T. IX, 1909.

Klebemasse gleichmäßig bestrichen, die Schnitte sorgfältig auf dem Papier ausgebreitet und mittels Fließpapier sanft angepreßt. Will man aus Paraffinmaterial hergestellte Schnitte später auf Glas übertragen, so bediene man sich eines Abklatschmittels, z. B. des Guttaperchas. Dieses kann entweder in dünner gewalzter Form als Guttaperchapapier direkt, oder als sirupdicke Lösung davon in Chloroform zur Anwendung kommen. Im ersten Falle schneidet man sich zunächst ein Stückchen der Guttaperchafolie etwa in der Größe des Schnittes und legt es auf den gut gereinigten Objektträger. Dann drückt man den abzuklatschenden Schnitt, aus dem durch sanftes Pressen zwischen Filtrierpapier der Überschuß des nach der Färbung verwandten Xylols entfernt wird[1]), auf dieses Guttaperchapapier-Stückchen auf und erwärmt vorsichtig den Objektträger, wobei ein noch innigeres Ankleben erfolgt. Die dem Beobachter zugekehrte Papierfläche bepinselt man alsdann mit einem Zelloidin-lösenden Mittel, wie Nelkenöl, Äther, Alkohol, Azeton u. ä. Nach einigen Minuten läßt sich dann das Papier von dem Schnitt, der fest auf dem Objektträger haftet, abziehen. Will man, was in den meisten Fällen nötig ist, die Guttaperchamasse entfernen, ohne daß der Schnitt geschädigt wird, so überpinselt man diesen mit Rizinusöl-Kollodium-Klebemasse und legt den Objektträger für einige Min. in erwärmtes Xylol. Dabei löst sich das Guttapercha, und der ursprüngliche Paraffinschnitt ist in einen Zelloidinschnitt umgewandelt, der in Kanadabalsam unter Deckglas eingeschlossen werden kann.

Zelloidineinbettung. Wirklich allgemeine Bedeutung hat für botanische Mikrotechnik, wie schon erwähnt, nur die Paraffineinbettung erlangt. Die Zelloidineinbettung kommt nur in vereinzelten Fällen in Betracht, ist weit mühsamer und umständlicher und wird nur dort Anwendung finden, wo die Paraffin-Methode versagt. Das ist vornehmlich der Fall, wenn es gilt, ältere Pflanzenteile einzubetten. In solchen werden durch Paraffin leicht Schrumpfungen veranlaßt. Doch gelingt auch die Zelloidineinbettung nur gut, wenn derartige Pflanzenteile weite Interzellularen besitzen. Ihre Anwendung empfiehlt sich beispielsweise für Blätter. — Auch die Zelloidineinbettung[2]) verlangt völlig wasserfreie Objekte. Diese werden aus dem Alk. abs. zunächst auf 6 bis 10 Std. in ein Gemisch von gleichen Teilen Alkohol und Äther übertragen. Das in Tafelform käufliche Zelloidin, das durch Trocknen kleiner Stücke im Wärmeschrank völlig entwässert sein muß, löst man in gleichen Teilen Alkohol und Äther auf. Man stellt sich eine 5-proz. Lösung her, in welche die Objekte, nachdem sie in Alkohol-Äther verweilten, übertragen werden. Da das Zelloidin auch in so verdünnter Lösung schwer in die Gewebe eindringt, so nimmt man die Pflanzenteile möglichst klein und verschließt zunächst das Gefäß gut mit einem Korkstopfen. Nach etwa drei Tagen ersetzt man den Korkstopfen durch einen Glasstopfen, der eine, wenn auch geringe, Verdunstung des Lösungsmittels zuläßt, und bringt das Gefäß zur Vermeidung des Zutritts von Luftfeuchtigkeit in einen Exsiccator. Nach weiteren zwei bis drei Tagen fügt man einige Papierstreifen zwischen Stöpsel und Halswandung ein. Nach

[1]) Über den Färbeprozeß auf Papier aufgeklebter Schnitte vgl. Reg. IV Pauspapier.

[2]) Vgl. L. Koch, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXIV, 1892, S. 2, und A. B. Lee, P. Mayer, Grundzüge der mikroskopischen Technik, 4. Aufl., 1910, S. 103 ff.

etwa acht Tagen pflegt die Lösung Sirupkonsistenz erlangt zu haben. Sind die Objekte ohne größere Interzellularen, in welchen die Zelloidinlösung sich verbreiten könnte, so müssen alle Zeiträume weit reichlicher bemessen werden. Es können Wochen, unter Umständen Monate verstreichen, bevor eine volle Durchtränkung erfolgt ist. Angenommen, die Durchtränkung sei gelungen, so wird die sirupdicke Einbettungsmasse durch direktes Verdunsten oder durch Einwirkung von 60-proz. Alkohol zum Erstarren gebracht. Das Erstarren durch Eintrocknen nimmt man am besten in einer kleinen, bedeckten, völlig trockenen Glasdose vor. Bilden sich dabei Luftblasen, so entfernt man sie vor dem Härten dadurch, daß man das Ganze in einem Exsiccator oder in einem sonstigen, gutschließenden Gefäß 1 bis 2 Std. lang der Einwirkung von Ätherdämpfen aussetzt. Man muß dabei acht geben, daß der Äther, den man auf den Boden des Gefäßes gießt, die Masse nicht benetzt. Frühzeitig gilt es, mit dem Messer das erstarrende Zelloidin von den Wänden der Dose loszulösen und die ganze Masse umzukehren, damit die Verdunstung gleichmäßig erfolgt. Es ist dafür zu sorgen, daß die Festigung nur langsam vor sich geht und erst nach Tagen vollzogen ist. Die durchsichtige Masse wird hierauf der Lage des Objektes gemäß zugeschnitten; da sie etwas elastisch bleibt, so darf ihr Durchmesser nicht unter 1 cm genommen werden, damit sie dem Messer nicht ausweiche. Der zugeschnittene Block kommt zum mindesten auf 24 Std. in ein Gefäß mit 85-proz. Alkohol[1]), das nicht ganz geschlossen werden darf. Je länger er in solchem Alkohol bleibt, desto besser läßt er sich schneiden. Soll die Härtung des Zelloidins gleich in 60-proz. Alkohol vorgenommen werden, so gießt man die sirupdicke Masse in ein kleines Kästchen, das man aus Schreibpapier angefertigt, orientiert nach Wunsch das Objekt und versenkt das Ganze in den Alkohol. Durch entsprechende Belastung des Kästchens an seiner Unterseite muß ihm eine aufrechte Stellung innerhalb des Alkohols gesichert werden. Diese Art der Härtung bietet der ersteren gegenüber Vorteile. Lee empfiehlt zur definitiven Härtung bei kleinen Objekten wasserfreies Chloroform[2]), welches schneller als der Alkohol wirkt; oft genügen hierzu schon einige Stunden. Dabei kann das Zelloidin undurchsichtig werden, erlangt aber später seine Durchsichtigkeit wieder. Blöcke, die man nicht gleich schneiden will, bewahrt man am besten in 70-proz. Alkohol auf. Die Befestigung des Zelloidinblocks am Objekttisch des Mikrotoms erfolgt durch Vermittlung eines in dem Objekthalter einzuklemmenden Holzzylinders (für sehr kleine Objekte Holundermark). Auf die Oberfläche des letzteren, die rauh sein muß, wird ein Tropfen sirupdicker Zelloidinlösung gebracht und auf diesen der abgetrocknete, an der entsprechenden Seite mit Äther bestrichene Zelloidinblock gedrückt. Meist ist die Befestigung nach 10 bis 15 Min. vollzogen. Umgibt man, um noch größere Haltbarkeit zu erzielen, den Zelloidinblock an seiner Befestigungsstelle mit Zelloidin, so ist es nötig, hierauf den Block samt dem ihn tragenden Holzzylinder auf einen Tag in 85-proz. Alkohol zu legen. — Das Mikrotommesser muß möglichst schräg

[1]) Diese Konzentration hat sich aus den Versuchen von W. Busse als die günstigste ergeben. Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. IX, 1892, S. 49.

[2]) A. B. Lee und P. Mayer, l. c. 1910, S. 107.

zum Zelloidinblock gestellt werden und die Schnittfläche dauernd mit 85-proz. Alkohol befeuchtet bleiben. Man schmiert zu diesem Zwecke die Messeroberfläche mit einer Spur Vaselin ein und gießt 85-proz. Alkohol darauf. Die Schnitte schwimmen dann auf dieser das Messer deckenden Flüssigkeit und werden mit einer Nadel auf einen Objektträger, der ebenfalls mit 85-proz. Alkohol benetzt ist, übertragen. Unter Umständen kann es sich empfehlen, einen Tropfapparat über dem Mikrotom anzubringen und aus diesem tropfenweise den 85-proz. Alkohol dem Messer zuzuführen. Auch kann unter Glyzerin, Zedernholzöl, Xylol mit Rizinusöl, ja selbst ohne Flüssigkeit geschnitten werden[1]). Fish[2]) empfiehlt auf den Zelloidinblock eine dünne Schicht von Watte zu legen, die mit einer Mischung aus 3 T. Thymusöl[3]) und 1 T. Rizinusöl getränkt ist. Dann könne man das in Zelloidin eingebettete Objekt ohne Nachteil stundenlang am Mikrotom lassen. Das Zelloidin werde dabei biegsamer, dünne Schnitte seien leichter herzustellen, das Messer bleibe länger scharf, die Schnitte schrumpften nicht. Die Schnittreihen sollen sich am besten mit Seidenpapier vom Messer auf den Objektträger übertragen lassen. Man saugt das überschüssige Öl mit dem Seidenpapier ab, setzt einige Tropfen von Äther und Alkohol in gleicher Menge zu, wodurch die Schnitte am Glase festkleben. Darauf überträgt man den Objektträger in 95-proz. Alkohol, um das noch vorhandene Öl zu entfernen, dann in 70-proz. Alkohol. Einwandfreie Schnitte, die dünner als 15 μ sind, wird man nur in seltenen Fällen aus Zelloidinmaterial erhalten. Das Objekt ist meist im Innern weniger gut gehärtet als außen, was die Bildung von Falten veranlaßt, die auch durch einen mit Fließpapier ausgeübten Druck nicht auszugleichen sind[4]). — Man pflegt das Zelloidin aus den Schnitten nicht zu entfernen und befestigt diese nach Absaugen des Alkohols mittels Ätherdämpfen auf dem Objektträger. Das erfolgt durch Einbringen des Objektträgers in eine Dose, auf deren Boden sich Äther befindet. Sollen die Schnitte wirklich fest am Objektträger haften, so muß dieser vor dem Auflegen der Schnitte mit einem zarten Kollodiumhäutchen überzogen werden.

Ein festes Haften der Zelloidinschnitte an der Unterlage kann man auch dadurch erreichen, daß man die noch nassen Schnitte auf den mit einer durch Erwärmung zum Gerinnen gebrachten dünnen Eiweißschicht bedeckten Objektträger bringt und dann mit mehrschichtigem Fließpapier anpreßt. Bei sehr großen Schnitten kann man das Aufdrücken mit Fließpapier durch eine photographische Satinierwalze vornehmen. Die zur Verwendung kommende Eiweißlösung stellt man sich so her, daß man das Weiße eines Eies (ca. 20—25 ccm) mit Aq. dest. auf 100 ccm verdünnt, gut durchschüttelt und filtriert. Das Eiweiß ist damit so stark verdünnt, daß die Färbung der Schicht fast gleich Null ist[5]). — Als Universal-Auf-

[1]) Vgl. hierzu des näheren Lee und Mayer, l. c. 1910, S. 109.

[2]) Proceed. of the Amer. micr. Soc., 16 ann. meeting, 1893, S. 4.

[3]) Das rote, weit billigere Thymusöl ist ebenso brauchbar wie das weiße und macht ebenfalls das Zelloidin bzw. Kollodium so durchsichtig wie Glas.

[4]) Vgl. im übrigen die Besprechung der gebräuchlichsten Methoden des Herstellens und Aufklebens von Zelloidinschnitten von D. Carazzi, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXVI, 1909, S. 533 ff.

[5]) K. v. Tellyesniczky, Anat. Anz., Erg.-H. zu Bd. XXV, 1904, S. 182.

klebemittel für alle mikroskopischen Schnitte, besonders empfehlenswert für die vielfach schlecht haftenden Zelloidinschnitte, wird auch Phenolgelatine[1]) angewandt. Vgl. im übrigen Reg. IV unter Aufkleben.

Verschiedentlich, so bei der Präparation der Flechten (siehe dort Reg. IV) wurde auch der Versuch gemacht, die Methoden der Einbettung in Zelloidin und in Paraffin, von denen jede ihre Vor- und Nachteile hat, miteinander zu verbinden. Auch eine Kombination von Agar-Agar- und Paraffineinbettung wurde für die verschiedensten pflanzlichen Objekte empfohlen (vgl. dazu Reg. IV Einbettungsverfahren).

Einbettung in Glyzerin-Gelatine und ähnlichen Medien. Gilt es etwa nur, Laub- oder Blütenknospen auf mäßig dünnen Querschnitten zu untersuchen, wobei die einzelnen Teile ihre gegenseitige Lage behalten sollen, und dabei das Mikrotom zum Schneiden zu benutzen, so empfiehlt es sich, die frischen bzw. fixierten und dann mit Wasser ausgewaschenen Objekte mit Glyzerin-Gelatine, die bis zur Verflüssigung erwärmt und flüssig erhalten wird, zu injizieren. Das kann mit Hilfe einer Luftpumpe geschehen. Es ist unter Umständen gut, solche mit Glyzerin-Gelatine injizierte Objekte vor dem Schneiden noch in Alkohol einzulegen, wodurch die Glyzerin-Gelatine gehärtet wird. — Auch Gelatine und Agar können als Einbettungsmedien bei bestimmten Objekten gute Dienste leisten[2]).

Färbung der Schnitte. Die Mikrotomschnitte hätten an sich wenig Wert, wäre es nicht möglich, ihre feineren Strukturen durch entsprechende Färbungen gegeneinander abzuheben. Man nutzt hierzu die Eigenschaft der verschiedenen in den Aufbau der Zellkörper und der Membranen eingehenden Substanzen aus, nur bestimmte Farbstoffe aufzunehmen, oder sich mit demselben Farbstoff verschieden stark, bzw. in verschiedenen Tönen zu färben, oder endlich den einen oder den anderen Farbstoff stärker festzuhalten. Besonders wichtig für die histologische Forschung ist die Färbung des fixierten Zellkörpers geworden; wir wollen uns über die mikroskopische Färbetechnik orientieren. Der fixierte Zellinhalt der Pflanzen wird fast ausschließlich erst an den schon ausgeführten Schnitten gefärbt. Die Durchfärbung des Objekts vor dem Schneiden, die sogenannte „Stückfärbung", die bei tierischen Objekten so häufig angewandt wird, kommt für die Pflanzen nur selten in Betracht. Es ist das durch den Umstand bedingt, daß pflanzliche Membranen manche der für die Färbung des Zellinhalts bestimmten Farbstoffe nicht durchlassen, andere selber aufspeichern und so ihr gleichmäßiges Vordringen in dieser oder jener Weise beeinträchtigen. Das Färben der auf den Objektträger aufgeklebten Schnitte ist für pflanzliche Objekte das Vorteilhafteste. Die Färbung der Schnitte kann innerhalb bestimmter einfacher Farbstofflösungen und bestimmter Farbstoffgemische so reguliert werden, daß unmittelbar derjenige Grad der Tinktion erzielt wird, der für die einzelnen Bestandteile des Zellkörpers erwünscht erscheint. Dieses gelingt aber vornehmlich nur mit Farbstoffen, welche von bestimmten Teilen des Zellkörpers aus-

[1]) Über deren Herstellung und Anwendung vgl. Reg. IV.

[2]) Vgl. S. 278 bzw. Reg. IV Einbetten.

schließlich oder doch vorwiegend aufgespeichert werden. Für gewöhnlich wird ein Farbstoff von dem gesamten Zellinhalt aufgenommen, er färbt „diffus"; es gilt dann, den Umstand zu verwerten, daß ihn die verschiedenen Bestandteile des Zellkörpers mit verschiedener Energie festhalten. Es handelt sich darum, die Färbung zu „differenzieren". Daher die mannigfaltigen Nachbehandlungen der tingierten Schnitte, die darauf hinausgehen, nach vorausgegangener Überfärbung den Überschuß des Farbstoffes in entsprechender Weise wieder zu entfernen. Dabei spielt bei wasserlöslichen Farbstoffen das Auswaschen mit Wasser, bei alkohollöslichen das Ausspülen mit Alkohol, bzw. einem schwach angesäuerten Alkohol die Hauptrolle. Die Kunst besteht darin, die Entfernung des Farbstoffes im richtigen Augenblick zu unterbrechen, was vielfach nur durch mikroskopische Kontrolle des Färbungsgrades der Schnitte gelingt.

Die nach Anleitung dieses Buches untersuchten Objekte werden uns Gelegenheit bieten, uns mit verschiedenen Tinktionsmethoden vertraut zu machen. Hier wollen wir zunächst die Besprechung eines Färbeverfahrens vorausschicken, das in den Bonner botanischen Instituten an Mikrotomschnitten vornehmlich geübt wird. Es ist das eine Dreifachfärbung, das FLEMMINGsche Safranin-Gentianaviolett-Orangeverfahren, das gewöhnlich kürzer als FLEMMINGs Orangeverfahren bezeichnet wird[1]). Es kommen dabei drei Farben zur Anwendung, die höchste Zahl, die sich bis jetzt mit Vorteil an demselben Objekt vereinigen ließ. Diese Farben werden nicht gemischt, sondern nacheinander dargeboten; dabei verlangt jede eine ganz bestimmte Dauer der Einwirkung und eine entsprechende Nachbehandlung. Gute Resultate erhielten wir mit dieser Färbung besonders an Objekten, die mit FLEMMINGscher Lösung oder anderen ähnlichen, chromsäurehaltigen Flüssigkeiten fixiert worden waren; auch mit Alkoholmaterial hatten wir guten Erfolg, doch erst, als wir die auf Objektträgern befestigten Schnitte mit 1-proz. Chromsäurelösung beizten. Die Objektträger mit den Schnitten wurden zu diesem Zwecke 24 Std. lang in die Chromsäurelösung gestellt, dann in reines Wasser übergeführt und dort mindestens 2 Std. gelassen.

Zur Färbung darf unter allen Umständen nur geschritten werden, wenn alles Paraffin aus den Schnitten durch Abspülen mit Terpentin oder Xylol und darauf folgendem Alk. abs. entfernt wurde und etwaige von der Osmiumsäure herstammende Schwärzungen durch mehrstündiges Verweilen der Objekte in Terpentin oder 3-proz. wässriger Wasserstoffsuperoxydlösung beseitigt worden sind[2]). Nachdem die mit Wasserstoffsuperoxyd behandelten Objekte etwa 5 Min. lang in fließendem Wasser gewaschen und dann mit 80-proz. Alkohol abgespült worden sind, bzw. das Terpentin durch Alk. abs. entfernt ist, stellt man sie einen Tag lang, unter Umständen auch länger, in eine dunkle, alkohol. Lösung von Safranin in Alkohol — etwa 2 g spirituslösliches Safranin (von *Dr. G. Grübler & Co.*) in 100 ccm Alk. abs. —, zu der man ein gleiches Volumen Wasser, am

[1]) Arch. f. mikr. Anat., Bd. XXXVII, 1891, S. 240 und ebenda, S. 685.

[2]) Statt der wässrigen kann auch alkoholische Wasserstoffsuperoxydlösung (5 ccm Wasserstoffsuperoxyd auf 100 ccm 80-proz. Alkohol) mit gutem Erfolg benutzt werden. Über weitere „Bleichungsmittel" vgl. Reg. IV.

besten kalkhaltiges Leitungswasser, und ein wenig Anilinwasser (vgl. Reg. IV) hinzufügte. Hierauf werden die Schnitte mit Alkohol behandelt, dann mit Alkohol, dem 0,1 % reine Salzsäure zugesetzt ist, übergossen und abermals mit reinem Alkohol ausgewaschen. Dieses Auswaschen gilt es sehr vorsichtig auszuführen, namentlich den Salzsäure-Alkohol nur sehr kurz einwirken zu lassen, damit nicht zu viel Safranin den Schnitten entzogen wird. Im allgemeinen ist die erwünschte Farbenentziehung sehr rasch vollzogen. Nach Abspülung in Wasser wird der Objektträger auf etwa 1 bis 3 Min., unter Umständen aber auch kürzer oder länger, in eine etwa 1-proz., wässrige Lösung von Gentianaviolett gestellt. Man wäscht ihn dann rasch in Wasser aus und überträgt ihn in eine 1-proz. wässrige Lösung von Orange G., welche man 1 bis 5 Min. auf die Schnitte einwirken läßt[1]). Dann wäscht man zunächst die Schnitte in Wasser, dann in Alk. abs. aus, setzt die Waschung in Nelkenöl[2]) fort, so lange, wie blaue Gentianawolken aus den Schnitten entweichen, trägt dann in Xylol gelösten Kanadabalsam auf und bedeckt mit dem Deckglas. In zytologischen Präparaten sollen dann die Chromosomen intensiv rot erscheinen, ebenfalls die Nukleolen, wenn auch oft mit einem Stich ins Violette, die Spindelfasern bzw. die Verbindungsfäden rein violett, das übrige Zytoplasma hell-bräunlich (vgl. die entsprechende Figur im letzten Abschnitt). Es ist darauf zu achten, daß man nicht mehr Kanadabalsam aufträgt, als unter dem Deckglas festgehalten wird. Daß man nur sehr dünne Deckgläser benutzen darf, ist für diese Untersuchungen, die bei starker Vergrößerung vorgenommen werden sollen, selbstverständlich. Vorteil bringt es, über große Deckgläser zu verfügen, welche die Bedeckung verhältnismäßig langer Schnittbänder zulassen. Auch diese müssen, wie die Objektträger (vgl. S. 76) gut gereinigt sein. Da sie beim Putzen leicht zerbrechen, muß Vorsicht geübt werden. Wir verfahren meist in der von W. J. G. Land vorgeschlagenen Weise[3]), indem wir die Deckgläser erst in eine Glasreinigungs-Flüssigkeit bringen, die aus einem Gemisch von Schwefelsäure und Kaliumbichromat besteht, dann unter der Wasserleitung abspülen, um die Säure ganz zu entfernen, dann noch naß in Alkohol überführen und schließlich bis zum Gebrauch in 95-proz. Alkohol aufbewahren. Beim Gebrauch nimmt man das Deckglas vorsichtig und langsam aus dem Alkohol, berührt mit seiner nach unten gehaltenen Kante ein staubfreies Fließpapierstückchen, welches den überschüssigen Alkohol absaugt, und hält das Glas über eine Flamme, um den letzten Alkoholrest zu entfernen. Dann legt man das Glas noch warm dem Präparat auf. — Die Dauer der Einwirkung der einzelnen Farbstoffe und ihres Auswaschens ist für jedes Objekt auszuprobieren. Sie fällt je nach der Natur des Objektes und der Art seiner Fixierung verschieden aus. Während beispielsweise bei der Färbung des Inhalts bestimmter in Teilung begriffener Pollenmutterzellen das Einhalten der eben empfohlenen Dauer beim Färben, Auswaschen, Entwässern und Aufhellen sich bewährte, erhielten wir an Schnitten durch Fucus-Oogonien die besten Resultate, wenn die Safraninfärbung nur eine

[1]) Vgl. hierzu auch Reg. IV Orangeverfahren.
[2]) Auch flüssiges Terpineol wird empfohlen (s. Reg. IV).
[3]) W. J. G. Land, Bo . Gaz., Vol. LIX, 1915, S. 401.

halbe Stunde, die Gentianafärbung 10 Min., die Orangefärbung 1 Min. fortgesetzt wurde. Der Färbung mit Orange mußte ein Auswaschen mit Wasser, nicht direkt ein solches mit Alk. abs. folgen. Wurde gleich mit Alk. abs. operiert, so hatte das ein fast vollständiges Ausziehen des Gentianavioletts zur Folge. — Ist die dreifache Färbung in jedem einzelnen Falle gut gelungen, so zeigt sie die verschiedenen Bestandteile des Protoplasmas in verschiedener, die Unterscheidung wesentlich fördernder Weise tingiert. — Als Gefäße, in denen man die Färbung vornimmt, sind kleine Zylindergläser, z. T. auch rechteckige Kästen, bei uns im Gebrauch. Die Zylindergläser sollen so groß sein, daß sie zwei Objektträger leicht aufnehmen können, deren Präparatenseite man zweckmäßig nach außen kehrt. Meist lassen sich in ihnen auch vier Objektträger gut unterbringen. Man legt dabei diese paarweise mit den freien Flächen aneinander und hält die Paare durch Korkstückchen oder Glasschwimmer getrennt. Wir ziehen es unter Umständen vor, jeden Objektträger einzeln den Färbungsmanipulationen zu unterwerfen, weil auf diese Weise dem Zufall ein gewisser Spielraum gelassen wird, der es fügt, daß einzelne Präparate ausnehmend gut geraten, in diesem Präparat die eine, in jenem die andere Struktureigentümlichkeit besser hervortritt. Auch haben diese kleinen Zylinder den Vorteil, sich leicht und gut mit eingeriebenen Glasstopfen schließen zu lassen. Die rechteckigen, meist mit abnehmbarem Deckel versehenen Kästen lassen die gleichzeitige Behandlung einer größeren Zahl von Präparaten zu, die durch vorspringende Zahnleisten bzw. eingeschliffene Rillen vor dem Zusammenklappen bewahrt werden. (Vgl. Fig. 52.) Die Lücken zwischen den einzelnen Zahnleisten bzw. die Rillen sind meist so breit gehalten, daß man in jede zwei Objektträger Rücken an Rücken einsetzen kann. Derartige Kästen werden in Glas oder Porzellan von den verschiedensten Firmen, so von *Leitz*-Berlin, *C. Gerhardt*-Bonn, den *Vereinigten Lausitzer Glaswerken*-Berlin und von *Bartsch, Quilitz & Co.*-Berlin zum Preise von etwa 60 M hergestellt. Sollen die Objektträger gemeinsam aus einer Flüssigkeit in die andere befördert werden, so bedient man sich am besten kleiner (Fig. 53 b) Färberahmen, die man mitsamt den in ihnen

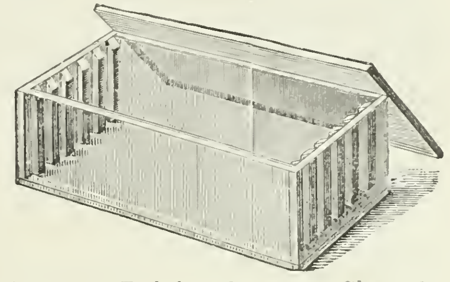


Fig. 52. Färbekästchen aus Glas oder Porzellan.

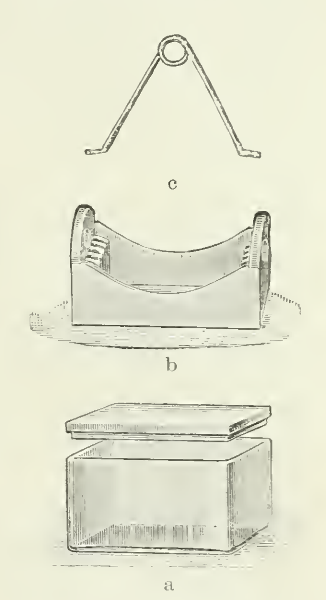


Fig. 53. a Färbekästchen mit Deckel, b Gestell, das mittels des Hebels c von einem Färbekästchen in ein anderes übertragen werden kann.

festgehaltenen Präparaten mittels eines Hebers (Fig. 53 c) aus einem Färbekasten (Fig. 53 a) in den anderen übertragen kann. Solche Färberahmen aus dickem Glas mit 10 Rillen zur Aufnahme von 20 Objektträgern englischen Formats berechnet *C. Gerhardt*-Bonn mit 50 M, den dazugehörigen Heber mit 14 M, das passende Glaskästchen einschließlich Deckel mit 80 M. Auch *Bartsch, Quilitz & Co.* und die *Vereinigten Lausitzer Glaswerke* liefern derartige Färbevorrichtungen. Färbegestelle aus säurefestem Nickelin mit Glaskästchen und Deckel liefert *Fr. Dröll*-Heidelberg zum Preise von etwa 150 M[1]).

Vielfach wenden wir auch beim Färben das HEIDENHAINsche Eisen-Hämatoxylin-Verfahren an, und zwar gewöhnlich in folgender, in den Bonner botanischen Instituten gebräuchlichen Weise. Nach Beseitigung des Paraffins aus den Schnitten durch Xylol, des Xylols durch Alk. abs., der von der Osmiumsäure herstammenden Schwärzungen durch kürzeres oder längeres Belassen in Terpentin[2]), des letzteren wieder durch Alk. abs., übertragen wir die Objekte für einige Minuten in 95-proz. Alkohol, aus diesem in Aq. dest., worin sie abgespült werden. Dann gelangen die Objekte zur Beize in eine 3-proz., wässrige Lösung von schwefelsaurem Eisenoxydammon HEIDENHAINS (von *Dr. G. Grübler & Co.*-Leipzig zu beziehen). In dieser bleiben sie die Nacht über oder 24 Std. lang. Hierauf werden sie in Aq. dest. gut abgespült und in eine genügend alte Hämatoxylinlösung[3]) für 12 bis 24 Std. übertragen. Nach der Einwirkung des Hämatoxylins erscheinen die Präparate tief schwarz. Sie werden in Leitungswasser gründlich abgespült und zum Differenzieren wieder in eine 3-proz. wässrige Eisenoxydammon-Lösung gebracht[4]). Nachdem der genügende Grad der Differenzierung erreicht ist, was unter dem Mikroskop kontrolliert werden muß[5]), übertragen wir die Präparate in fließendes Leitungswasser und lassen sie etwa 1/4 Std. in diesem. Dann gelangen sie sukzessive in 95-proz. Alkohol, Alk. abs., Xylol und Xylol-Kanadabalsam. Der Schwerpunkt der geschilderten Methode liegt in der Differenzierung. Um mit Sicherheit wenigstens einige Präparate zu erhalten, welche den gewünschten Tinktionsgrad besitzen, verfährt man am besten so, daß man eine größere Zahl von

---

[1]) Nach S. LICHTENBERG, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXI, 1904, S. 321.

[2]) Statt des Terpentins verwendet man mit gutem Erfolg auch 3-proz. wässriges Wasserstoffsuperoxyd, das nach beendeter Einwirkung zunächst gründlich in fließendem Wasser, dann in Aq. dest. ausgespült werden muß.

[3]) Man halte sich stets eine 10-proz. alkohol. Hämatoxylinlösung vorrätig; es zeigt sich nämlich, daß sie mit dem Alter an Wirksamkeit gewinnt (s. a. Reg. IV). Bei Bedarf nimmt man auf 1 T. dieser Hämatoxylinlösung 9 T. Aq. dest. Dieses Gemisch kann man bei sauberem Arbeiten, vor allem gründlichen Ausspülen des Eisenalauns, monatelang verwenden. Statt des Hämatoxylins ist mit gutem Erfolg auch Brasilin (s. Reg. IV) verwendet worden. — Ob das Hämatoxylin, das sich gerade so wie in der tierischen und menschlichen auch in der botanischen Histologie als hervorragendes Kernfärbungsmittel erwiesen und bewährt hat, durch lösliche Lacke von Oxy-Anthrachinonen und Naphtochinonen in weitgehendem Maße verdrängt werden wird, wie S. BECHER, Untersuchungen über Echtfärbung der Zellkerne, Berlin 1921, meint, werden weitere mikrotechnische Versuche lehren.

[4]) Zum Beizen verwende man stets frische Eisenalaunlösung, zum Differenzieren leistet jedoch auch gebrauchte gute Dienste.

[5]) Vgl. dazu auch TH. BOVERI, der in seinen „Zellstudien“ 4, Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss., Bd. XXXV, 1901, eine wertvolle Kritik der Eisen-Hämatoxylinfärbung in Anknüpfung an die Differenzierungsvorgänge gibt.

Objekten, die dem nämlichen Paraffinblock entstammen, zu gleicher Zeit behandelt, zusammen etwa 10 bis 12 Präparate. Man führt das am zweckmäßigsten in schmalen, mit Glaskappen bedeckten Glaszylindern aus, in welchen etwa 4 Präparate so untergebracht werden können, daß man je zwei mit der Rückenseite aneinander legt. Damit bei der Schnelligkeit, mit der die Übertragung aus einer Flüssigkeit in die andere erfolgen muß, eine Beschädigung der Präparate durch Verwechseln ihrer Ober- und Unterseite ausgeschlossen sei, bezeichnet man die Oberseite des Objektträgers mit einem Glaserdiamanten. Einige Augenblicke, nachdem man die Objekte in die Differenzierungsflüssigkeit gebracht hat, muß man schon mit ihrer Kontrolle beginnen, da die Differenzierung sehr rasch von statten gehen kann. Sobald letztere annähernd den gewünschten Grad erreicht hat, muß schnell die Überführung in Wasser erfolgen. Dann werden wohl einige Präparate besonders gut gelungen, manche zu wenig, andere zu stark entfärbt sein. — Bei Objekten, die mit Sublimatgemischen fixiert worden sind, schickt man der ersten Behandlung mit Eisenlösung eine etwa 10 Min. lang dauernde Vorfärbung mit Bordeaux-Rot (1 % Bordeaux-Rot in Wasser, ca. achtmal verdünnt) mit nachfolgender Abspülung durch Aq. dest. voraus. Die hierauf folgende Einwirkung der Eisenlösung braucht dann nur ca. 4 bis 6 Std. zu dauern. — Für bestimmte Zwecke hat sich auch eine Nachfärbung der mit Eisen-Hämatoxylin tingierten Objekte und zwar mit Lichtgrün oder Säurefuchsin als vorteilhaft herausgestellt[1]).

Bei Anschaffung der Farbstoffe ist sehr darauf zu achten, daß sie den empfohlenen wirklich entsprechen. So handelt es sich beispielsweise beim Orange G um ein Natriumsalz der Benzolazobetanaphtholdisulfosäure; es könnte dieses mit einem der zahlreichen im Handel vorkommenden Orange-Farbstoffe leicht verwechselt werden. Um die richtigen Farbstoffe zu erhalten, muß man sie somit von einer Stelle beziehen, welche Fühlung mit den wissenschaftlichen Anforderungen der Mikrotechnik hat. Zahlreiche Firmen in Deutschland und in anderen Ländern haben sich dieser Aufgabe unterzogen; wir begnügen uns hier, vier bewährte Quellen für Deutschland zu nennen, und zwar die Zentralstelle für mikroskopische, chemische und technische Bedarfsartikel von *Dr. G. Grübler & Co.*-Leipzig; das mikroskopisch-chemische Institut von *Ad. Abich*, vorm. *Dr. G. Münder*-Göttingen, dann die chemischen Fabriken von *C. A. F. Kahlbaum*-Adlershof bei Berlin und *E. Merck*-Darmstadt. Nur bei ganz bestimmten Farbstoffen ist die besondere Bezugsquelle noch genannt, namentlich erschien dies notwendig für gewisse im Auslande empfohlene Farbstoffe, die dann auch, um jede Verwechslung auszuschließen, mit ihrer fremden, den Angaben der Autoren entsprechenden Bezeichnung angeführt sind. Die von verschiedenen Firmen in den Handel gebrachten Farbstofftabletten und Farbstifte (vgl. XXI. Abschn.) kommen für die botanische Mikrotechnik nur in beschränktem Maße in Betracht.

Beim Färben der Schnitte, die in Zelloidin eingebettet wurden, färbt sich letzteres meist mit. Während der Weiterbehandlung der Schnitte pflegt es sich wieder zu entfärben; doch hält

[1]) Vgl. G. Tischler, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLII, 1906, S. 549.

es gewisse Farbstoffe, besonders einige Anilinfarben, wie Gentianaviolett fest; diese müssen daher bei der Färbung vermieden werden. Kommt es gerade auf diese Färbungen an, so muß das Zelloidin zunächst aus den Schnitten mit Alkohol-Äther entfernt, der Objektträger mit Eiweiß-Glyzerin eingerieben, die Schnitte ihm angedrückt und durch das koagulierende Eiweiß beim Erwärmen befestigt werden. Hat man das Zelloidin aus den Schnitten nicht entfernt, so darf man sie weder mit Alk. abs., noch mit Nelkenöl behandeln, da beide das Zelloidin lösen. Sollen diese Schnitte in Kanadabalsam oder Dammarlack eingeschlossen werden, so läßt man sie 96-proz. Alkohol und hierauf Origanum- oder Bergamottöl passieren. Will man sie in Glyzerin-Gelatine (vgl. Reg. IV) einschließen, so gilt es, sie zunächst in Wasser gut auszuwaschen. Dann erst kann die Glyzerin-Gelatine, bis zur Verflüssigung erwärmt, aufgetragen und mit Deckglas bedeckt werden.

Die Behandlung der Schnitte nach erfolgter Färbung mit Nelkenöl oder, wie im letzten Falle, mit Origanum- oder Bergamottöl, und ihr schließlicher Einschluß in einen Balsam hat den Zweck, das Präparat entsprechend aufzuhellen. Ähnliches soll bis zu einem bestimmten Grade durch den zuvor erwähnten Einschluß in Glyzerin-Gelatine erreicht werden. Wie weit eine Aufhellung des Objekts wünschenswert ist, welche Aufhellungs- und Einschlußmedien sich im Einzelfall empfehlen, werden wir später erfahren. Dann werden wir auch lernen, Präparate, die in flüssigbleibenden Medien eingeschlossen werden, luftdicht abzuschließen. Als eine gute Quelle für Bezug von Einschlußmedien wäre wieder das Laboratorium von *Dr. G. Grübler & Co.*-Leipzig zu nennen. Die Einschlußmedien werden auf Wunsch in Tuben geliefert, aus denen sie in beliebig großen Tropfen herausgedrückt werden können.

Mikrophotographie und Projektion. Eine immer größere Bedeutung gewinnt für die mikroskopische Forschung die Photographie. Nicht, daß sie die Zeichnung der mikroskopischen Bilder allenthalben zu ersetzen berufen wäre, wohl aber wird sie immer mehr dort in den Vordergrund treten, wo es darauf ankommt, durch photographische Wiedergabe des mikroskopischen Bildes Belegstücke für die vorgebrachte Ansicht zu schaffen. Wer Mikrophotographien anfertigen will, muß sich selbstverständlich zunächst mit der photographischen Technik überhaupt vertraut machen. Speziell auf die Mikrophotographie bezügliche Angaben pflegen die Optiker ihren Apparaten beizulegen[1]). Die *Zeiss*sche Werkstätte sendet auf Verlangen einen Spezial-Katalog über Apparate für Projektion (Mikro 321 und 333) und Mikrophotographie (Mikro 264 und 328). Zu empfehlen sind außer den *Zeiss*schen Apparaten für Mikrophotographie und Projektion auch die von *E. Leitz*-Wetzlar (Katalog Nr. 46 G 1915 und Nr. 45 H 1914) von *Dr. Alfr. Schröter*-Leipzig-Connewitz, von *R. Winkel*-Göttingen (Katalog M. 113) und von *Reichert*-Wien (Katalog DS 4 und PA 3), um nur diese zu nennen. Bei Anschaffung solcher Apparate gilt es, sich mit der betreffenden Werkstätte in Verbindung zu setzen,

[1]) S. a. KARL KAISERLING, Lehrbuch der Mikrophotographie, 2. Aufl., Berlin 1916, und Derselbe, Die mikrophotograph. Apparate und ihre Handhabung, Stuttgart 1918. S. a. K. VON NEERGAARD, Grundregeln der Mikrophotographie, Zürich 1917.

ihr seine Wünsche und die Ansprüche, die man an den Apparat stellen will, mitzuteilen. Im einzelnen hier bestimmte Apparate zu empfehlen, würde zwecklos sein. Es genüge daher die Angabe, daß unter den mikrophotographischen Apparaten billigen Anforderungen schon der in Fig. 54 dargestellte, sehr preiswerte Apparat für Plattenformat 9×12. von *Dr. Alfred Schröter*-Leipzig-Connewitz zu beziehen (Preis 1800 M), und der kleine mikrophotographische Apparat IV von *Leitz* (Nr. 843 des Katalogs 46 G), (Fig. 55) vollkommen gerecht wird. Der *Schröter*sche Apparat stellt eine Vertikal-Kamera dar, bestehend aus einem festen, eisernen Fuß, einer eisernen, vernickelten Gleitstange mit zwei ebensolchen Trägern, der Kamera, deren Balg eine Auszugslänge von 42 cm hat. Die Kamera wird mit dem Mikroskop durch einen kleinen Gummimantel mit Zug verbunden und eignet sich für Mikroskope aller Systeme. Zwecks Einstellen der Bilder werden dem Apparat eine Mattscheibe und eine durchsichtige Glasscheibe beigegeben. Als Kassetten gehören zu der Kamera die bekannten Metallkassetten, von denen zwei Stück mitgeliefert werden. Obwohl es sehr gut möglich ist, ohne Kondensor mit dieser Kamera brauchbare Mikrophotographien herzustellen, so empfiehlt *Dr. Schröter*, um auch den höchsten Anforderungen in bezug auf Schärfe der Bilder gerecht werden zu können, den von ihm zu dieser Kamera konstruierten Kondensor zum Preise von 300 M. — Auch bei dem erwähnten *Leitz*schen Apparat (Preis 4000 M) gleitet die Kamera an einer auf eiserner Fußplatte befestigten Säule (vgl. Fig. 55). Das Mikroskop wird so auf die Fußplatte gestellt, daß der Tubus sich genau unter dem Halse der Kamera befindet. Die Kamera kann in entsprechender Höhe fixiert und der Kamerabalg verkürzt oder verlängert werden. Zum Einstellen des Präparats im Mikroskop kann der Balg seitlich ausgeklappt und später in eine Nute zurückgeführt werden. Ein doppelter, breiter Metallring wird über den Mikroskop-Tubus geschoben und fügt sich in einen ähnlichen Ring am Hals der Kamera ein, wodurch jedes seitliche Licht abgeschlossen wird. Man setzt nun die Mattscheibe mit der matten Seite nach unten ein und sorgt dafür, daß der helle

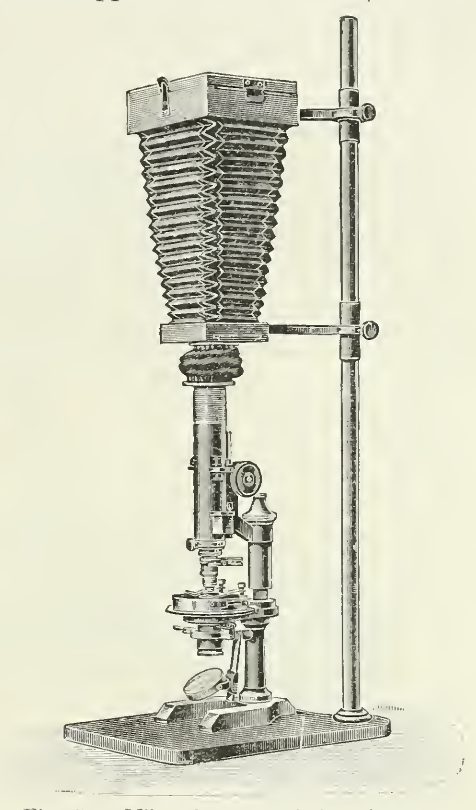


Fig. 54. Mikrophotographischer Apparat von *Dr. Schröter*.

Gesichtskreis in die Mitte kommt. Jetzt stellt man mit der Mikrometerschraube das Präparat ein und ersetzt, wenn dies geschehen, die Mattscheibe durch eine durchsichtige Glasplatte, die Einstellscheibe. Diese Glasplatte wird mit der Seite, in welche ein Kreuz eingeritzt ist, nach unten gekehrt. Auf dieses Kreuz muß eine besonders für diesen Zweck beigegebene Lupe scharf eingestellt werden, wobei man das Auge möglichst der Lupe nähert. Jetzt betrachtet man mit dieser Lupe auch das Bild des Objekts und sucht

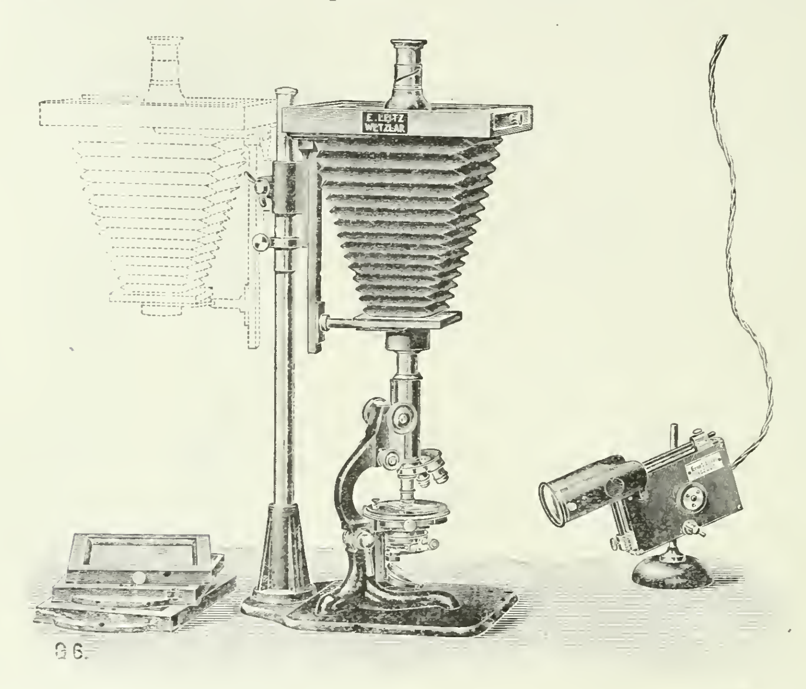


Fig. 55. Kleiner mikrophotographischer Apparat IV von *Leitz* samt Mikroskop. Links Kassetten, rechts Liliputbogenlampe.

mit der Mikrometerschraube eine möglichst scharfe Zeichnung davon zu erlangen. Es empfiehlt sich hierauf, den ganzen Apparat etwa eine Viertelstunde ruhen zu lassen, und sich dann zu überzeugen, ob die Schärfe des Bildes dieselbe blieb. Hierauf ersetzt man die Einstellscheibe durch die Kassette, in welcher die Gelatine-Trocken-Platte mit der matt erscheinenden, empfindlichen Seite nach unten liegen muß. Dann stellt man einen undurchsichtigen Gegenstand vor den Mikroskopspiegel, zieht den Schieber der Kassette heraus, entfernt den undurchsichtigen Gegenstand und exponiert. Die Dauer der Exposition hängt von der Lichtquelle und von der angewandten Vergrößerung ab. Bei Anwendung von Gasglühlicht hat sie etwa zehnmal so lange, wie bei dem durch die Mattscheibe zerstreuten Sonnenlicht zu dauern. Mit Apochromaten und periplanatischen Okularen erhält man auch bei weißem Licht vollkommene Bilder. Wendet man dabei Gasglühlicht an, so empfiehlt es sich, das S. 36 erwähnte, und zwar mit reinem Wasser gefüllte Glaskölbchen zwischen

dieses und den Mikroskopspiegel einzuschalten. Doch kann man statt dessen auch eine Beleuchtungslinse von 100 mm Durchmesser verwenden, die *Leitz* mit Stativ zum Preise von 800 M (Nr. 854) liefert. Eine Auerlampe mit Blechzylinder und mit Halter zum Vorschalten von Farbscheibchen wird von *Leitz* (Nr. 853) für 600 M hergestellt. Durch die Einschaltung einer solchen Beleuchtungslinse zwischen Spiegel und Lichtquelle werden die störenden Wärmestrahlen vom Stativ abgehalten, die Beleuchtung wird gleichmäßiger und die Expositionsdauer ganz bedeutend verkürzt. Eine besondere Verkürzung der Belichtungszeit erreicht man durch Verwendung der schon auf S. 20 angeführten Liliputbogenlampe (s. a. Fig. 55 rechts), die *Leitz* für 1600 M liefert. Wenn man Achromate für die Mikrophotographie anwendet, kommt die Differenz zwischen deren optischem und chemischem Fokus zur Geltung. Sie setzt die Schärfe des Bildes, namentlich bei starker Vergrößerung, etwas herab. Diesem Übelstand sucht man durch Anwendung monochromatischen Lichtes abzuhelfen. Das monochromatische Licht läßt sich durch selektiv absorbierende Flüssigkeiten, sog. Lichtfilter, herstellen. Diese Flüssigkeiten werden in parallelwandigen Küvetten aus Spiegelglas zwischen die Lichtquelle und den Mikroskopspiegel eingeschaltet. *Leitz* gibt seinem Apparat für monochromatische Beleuchtung ein gelbes und ein grünes Glasscheibchen bei, die man dem Irisblendenträger auflegt. Bei Aufnahme gefärbter Präparate kommen orthochromatische Platten zur Anwendung. Der Irisblendenträger wird alsdann mit dem gelben Glasscheibchen bedeckt. Mit der homog. Immersion und dem Okular V von *Leitz* ist nach Einschaltung des gelben Scheibchens die Expositionszeit bei Anwendung von Sonnenlicht und matter Platte 1 Min., bei Anwendung von Auerschem Glühlicht 10 Min. Die schwachen *Leitz*schen Achromate können am mikrophotographischen Apparat mit Vorteil in Verbindung mit den sogenannten Projektions-Okularen benutzt werden, die starken Achromate auch mit periplanatischen Okularen. Wer über Apochromate verfügt, wird selbstverständlich nur diese für die Photographie verwenden. Ihr Vorzug den Systemen älterer Konstruktion gegenüber ist hier noch wesentlich größer als bei gewöhnlicher direkter Benutzung. Denn die Apochromate sind auch auf die Lichtstrahlen geringer Wellenlänge, die photo-chemisch wirksamen Teile des Lichtes, korrigiert. Von den Strahlen dieser Wellenlänge empfängt das Auge den schwächsten Eindruck; es ist für sie durch die weit stärkere Einwirkung der Strahlen größerer Wellenlänge gewissermaßen unempfindlich gemacht. Photographische Bilder, die den Strahlen geringerer Wellenlänge ihre Entstehung verdanken, können somit in schwierigen Fällen ein Hilfsmittel der Erforschung feinster Strukturen werden, Strukturen sichtbar machen, welche dem Auge beinahe verborgen blieben. So ist das ultraviolette Licht für mikrophotographische Aufnahmen dienstbar gemacht und damit das Auflösungsvermögen fast um das Doppelte des bisher Möglichen gesteigert worden. Bei den diesbezüglichen Versuchen stellte sich als weiterer Vorteil heraus, daß viele farblose Objekte, wie z. B. die einzelnen Teile der Zellkerne in lebenden Geweben, bedeutende Unterschiede in ihrer Durchlässigkeit für das ultraviolette Licht aufweisen und infolgedessen ähnliche Bilder wie künstlich gefärbte Ob-

jekte geben[1]). Die zur Mikrophotographie mit ultraviolettem Licht nötigen Einrichtungen können mit zugehörigem Prospekt von der Firma *Zeiss*-Jena bezogen werden. Das vollkommenste Bild wird erzielt werden, wenn das Licht geringerer Wellenlänge allein auf die photographische Platte einwirkt. Tingierte Präparate, welche orthochromatische Platten verlangen, werden somit für das Studium jener feinsten Strukturen nicht zu brauchen sein, ebensowenig wie Photogramme, bei deren Herstellung grüne oder gelbe Lichtfilter zur Anwendung kamen. — Man kann den *Leitz*schen Apparat auch benutzen, um größere, körperliche Gegenstände, bis zu einer Ausdehnung von 50 mm. bei auffallendem Licht, in 1- bis 3facher Vergrößerung aufzunehmen. Das Mikrosummar von 64 mm Brennweite (Preis 3200 M), das sich am besten für diese Aufnahmen eignet, wird mittels eines Zwischenstücks in dem Hals der Kamera befestigt und der Gegenstand dabei unter Benutzung einer entsprechenden Unterlage auf die Grundplatte gelegt.

Für viele Fälle, — besonders wenn es mehr auf Übersichtsbilder ankommt, — läßt sich statt der kostspieligen Platten Gaslichtpapier verwenden, mit dem man kontrastreiche negative und positive mikrophotographische Bilder erhält[2]).

Im übrigen lassen sich, wenn man über ein Mikroskop mit Kippvorrichtung und über eine einfache, ausziehbare photographische Kamera verfügt, auf sehr einfache Weise Mikrophotographien ohne weitere Apparate herstellen. Man setzt eine Auerlampe dicht vor den Kondensor des horizontal liegenden Mikroskops, dessen Spiegel vorher zu entfernen ist. Dann nimmt man die Linse aus der Kamera und sucht eine lichtdichte Verbindung zwischen dem Okular des Mikroskops und der Kamera herzustellen (etwa durch eine runde Pappschachtel, deren Böden man herausgenommen oder mit einer passenden Öffnung versehen hat). Wie s. Z. Versuche von K. Snell im botanischen Institut der landw. Hochschule Bonn-Poppelsdorf ergeben haben, lassen sich so bei schwachen Vergrößerungen sehr brauchbare Übersichtsbilder herstellen. — Auch mit Hilfe von Zeichenapparaten, z. B. des Edingerschen Apparats, können brauchbare Mikrophotographien hergestellt werden. Man bringt dann in den verdunkelten Raum an Stelle des Zeichenpapiers die photographische Platte[3]).

Was die zu photographierenden Präparate angeht, so muß man darauf achten, daß sich keine zu dicke Schicht des Einschlußmediums zwischen Deckglas und Objekt befindet und das Objekt möglichst plan liegt. Durch sanften Druck auf das Deckglas kann man sich da meist helfen. Ältere, in Kanadabalsam eingebettete Präparate erwärmt man vorsichtig, bevor man den Druck ausübt, den man in günstiger Weise auf dem Wege bewirkt, daß man auf das Deckglas des Präparats ein etwas kleineres Pappstückchen legt, das Ganze auf den Objekttisch eines Mikroskops bringt und mit Hilfe eines schwächern Objektivs, das man herabsenkt, eine Zeitlang aufdrückt.

---

[1]) Vgl. Aug. Köhler, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXI, 1904, S. 129.

[2]) Näheres darüber bei E. Naumann, Zeitschr. f. wiss. Mikr., Bd. XXXI, 1914, S. 472; ferner Derselbe, ebenda, S. 474, und P. Lindner, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXIV, 1916, S. 453.

[3]) Nach K. Huldschinsky, Zeitschr. f. wiss. Mikr., Bd. XXX, 1913, S. 206, und M. Wolff, ebenda, Bd. XXXI, 1914, S. 384.

Als Lichtquelle für Projektionen wäre das Sonnenlicht vor allem geeignet, wenn man bei seiner Benutzung nicht zu sehr vom Zufall abhinge. Daher ist in unseren Breiten die Anschaffung von Projektionsapparaten zu Demonstrationszwecken nur jenen anzuraten, die über elektrisches Bogenlicht verfügen. Denn dieses allein reicht unter den künstlichen Lichtquellen für stärkere Vergrößerungen aus. Die elektrische Bogenlampe muß aber, um Licht von geeigneter Verteilung und Intensität zu liefern, mit Gleichstrom gespeist werden. Wechselstromlampen sind weit weniger empfehlenswert. Wo man daher gezwungen ist, Wechselstrom zu verwenden, gilt es, ihn, freilich durch etwas kostspielige Maschinenanlagen, in Gleichstrom zu verwandeln. Über die Wahl der Projektionslampe, Auswahl und Zusammenstellung des ganzen Apparates erteilen die Spezialkataloge von *Zeiss* und *Leitz* die besten und eingehendsten Ratschläge.

I. Abschnitt.

Gebrauch des Mikroskops. Herstellung eines Präparats. Wechsel der Objektive. Bau der Stärke und Einwirkung von Reagentien auf sie. Grosse feuchte Kammer.

Objektive für Wasserimmersion und für homogene Immersion. Abbescher Beleuchtungsapparat. Zähleinrichtungen. Färbung und Korrosion der Stärke. Polarisationsapparat.

Handwerkszeug.

Beim Mikroskopieren stets zur Hand zu haben, am besten in einem Kästchen mit entsprechend großen Abteilungen aufzubewahren:
Objektträger, Deckgläser. Rasiermesser. Skalpell, Taschenmesser, Pinzette, zwei Nadeln, Pinsel, Glasstab, Uhrgläser, Holundermark, Korken. weiches Tuch, Leinenlappen oder japan. Reispapier bzw. Krepppapier, Fließpapier.

Untersuchungsmaterial.

Kartoffelknollen. Kartoffelmehl. Bohnenmehl. Westindisches Arrow-root. Weizenmehl. Haferkörner. Frische Stengelstücke einer Euphorbia, am besten Euphorbia helioscopia oder splendens.

Rhizome von Canna indica. Ostindisches Arrow-root. Scheinknollen von Phajus grandifolius. Roggenmehl. Klebhirsen-Stärke.

Wichtigste Reagentien.

Konz. Glyzerin. — Jodjodkaliumlösung. — Metallisches Jod. — Kalilauge.

Wir orientieren uns zunächst über die einzelnen Teile des zusammengesetzten Mikroskops (Fig. 56), und zwar wählen wir zu diesem Zweck das auf folgender Seite dargestellte aus. An dem Stativ dieses Mikroskops ist zu unterscheiden: der hufeisenförmige Fuß, die zugleich als Handhabe ausgestaltete Säule, der Objekttisch *ot*, die grobe Einstellung durch Zahn und Trieb *gc*, der Tubus *t*, der Spiegel *s* und die Mikrometerschraube *m*.

Die Spiegelfassung *s* vereinigt zwei Spiegel, auf der einen Seite einen planen, auf der anderen einen konkaven. Den ersteren werden wir bei schwachen, den letzteren bei stärkeren Vergrößerungen in Gebrauch nehmen. Der Objekttisch ist in der Mitte von einer kreisrunden Öffnung durchbrochen, die bestimmt ist, das vom Spiegel zurückgeworfene Licht durchzulassen. Unter dieser Öffnung befindet sich an diesem Instrument eine Zylinderblende (*cb*). Ihre Schiebhülse ist an der Unterseite des Objekttisches angebracht und läßt sich seitlich hervorziehen. In die Schiebhülse paßt ein Zylinder, der auf- und abwärts bewegt werden kann. In die obere Öffnung dieses Zylinders werden die verschieden weiten, dem Instrument beigegebenen

Blenden nach Bedarf eingesetzt. Sie müssen mit der Oberfläche des Objekttisches in eine Ebene zu liegen kommen. Mit Hilfe dieser Blenden regulieren wir die Beleuchtung, ziehen übrigens für den Anfang vor, den Zylinder mit der Blende ganz aus der Hülse herauszunehmen. Manche kleinere Stative führen an Stelle der Zylinderblenden eine gewölbte, exzentrisch befestigte Blendenscheibe, die man dreht, um verschieden weite Öffnungen in die optische Achse des Mikroskops einzustellen. Auf dem Objekttisch sind Federklammern (*fd*) angebracht, die dazu dienen sollen, den Objektträger festzuhalten. Wir wollen, falls möglich, diese zunächst entfernen. Der Tubus (*t*) wird durch Drehung der Schrauben (*ge*) gehoben oder gesenkt. Wir heben ihn so hoch, daß wir an sein unteres Ende ein Objektiv (*ob*), etwa das schwächere Objektiv B von *Zeiss*, 3 von *Leitz* oder dgl. bequem anschrauben können. Beim Anschrauben eines Objektivs halte man stets die Handfläche unter, damit es nicht zu Boden fällt, wenn die Verschraubung einmal nicht gefaßt hat. Welches Objektiv das schwächere ist, können wir an der bedeutenderen Größe seiner Frontlinse erkennen. Hierauf senken wir den Tubus wieder und nähern das Objektiv so weit dem Objekttisch, daß es von ihm nur noch etwa 1 cm entfernt ist. Das innere, mit Millimetereinteilung versehene Tubusstück ziehen wir nunmehr auf die vom Optiker angegebene Tubuslänge (meist 170 mm) aus, wobei wir bei Benutzung von Revolver oder Schlittenobjektivwechsler deren Dicke (meist 10 mm) in Abzug zu bringen haben. In das obere Ende des Tubus setzen wir jetzt ein schwaches Okular (*oc*), etwa das Okular 2 ein, wie wir denn überhaupt bei Benutzung Huyghensscher Okulare stets mit Vorliebe die schwächeren wählen werden. Wir stellen unser Instrument einem Fenster gegenüber auf, etwa in anderthalb Meter Entfernung von ihm, vermeiden aber stets direktes Sonnenlicht. Während wir nunmehr in das Okular hineinsehen, verändern wir die Neigung des Spiegels so lange, bis uns das Gesichtsfeld des Mikroskops hell und gleichmäßig erleuchtet erscheint. Dabei haben wir darauf zu achten, daß der Spiegel nicht aus der Achse des Instruments nach vorn oder nach

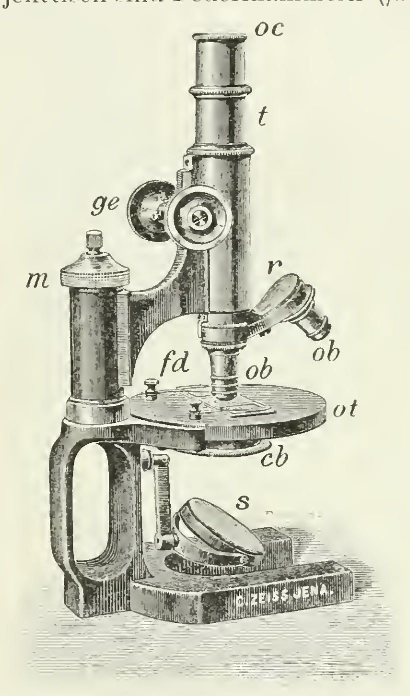


Fig. 56. Stativ *VB* von *Zeiss*[1]). 1/4 natürlicher Größe. *ot* Objekttisch, *cb* Zylinderblende, *fd* Federklammern, die ein Präparat auf dem Objekttisch festhalten, *s* Spiegel, *m* Mikrometerschraube, *ge* Schrauben für grobe Einstellung durch Zahn und Trieb, *t* Tubus, *ob* Objektive, *oc* Okular, *r* Revolver für zwei Objektive.

[1]) Zurzeit wird von *Zeiss* ein ähnliches Mikroskop als Arbeitsmikroskop VBA geliefert.

den Seiten herausgeschoben wird, da wir bei gerader Beleuchtung beobachten wollen.

Ein Objektträger wird jetzt mit einem weichen Tuch rein abgewischt und auf ihn mit dem Glasstab ein Tropfen reines Wasser gebracht.

Als erstes Objekt für die Untersuchung wählen wir eine Knolle der Kartoffel (Solanum tuberosum). Wir durchschneiden sie mit einem Taschenmesser und übertragen ein wenig von dem an der Schnittfläche hervorgetretenen Saft mit diesem Messer in den Wassertropfen. Dann bedecken wir den Tropfen mit einem Deckglas. Auch dieses muß zuvor, und zwar mit besonderer Vorsicht, gereinigt werden. Es geschieht das am besten mit Stücken alter, feiner Leinwand oder dem für solche Zwecke viel benutzten, äußerst weichen, japanischen Reispapier bzw. mit dem weichen, in Rollen erhältlichen Krepp-Papier[1]). Dabei muß das Deckglas möglichst flach zwischen Daumen und Zeigefinger festgehalten werden. Hat der Tropfen die richtige Größe gehabt, so tritt kein Wasser seitlich am Deckglasrand hervor. Ist dies jedoch geschehen, so entfernen wir das überschüssige Wasser mit Fließpapier oder stellen lieber ein zweites Präparat her, da unter dem Einfluß des saugenden Papiers doch die meisten der zu beobachtenden Körnchen hinweggeschwemmt werden.

Nunmehr legen wir den Objektträger auf den Objekttisch des Mikroskops, und zwar so, daß das Präparat über der Mitte der Objekttischöffnung sich befinde. Dann senken wir den Tubus fast bis zur Berührung des Deckglases durch das Objektiv. Hierauf bewegen wir, gleichzeitig in das Okular sehend, den Tubus mittels der Schraube *ge* möglichst langsam aufwärts. Es kommt bald der Augenblick, wo der zuvor unsichtbare Gegenstand in Gestalt kleiner Körner sich zu zeigen beginnt. Sollten wir uns hingegen über 2 cm weit mit dem Objektiv vom Deckglas entfernt haben, ohne die Körner zu erblicken, so liegen diese entweder nicht im Gesichtsfeld des Mikroskops, oder wir haben den Tubus zu schnell aufwärts bewegt und das rasch auftretende und ebenso rasch wieder schwindende Bild übersehen. Wir dürfen dann nicht etwa, den Tubus senkend, das Bild zu erhalten suchen, da wir dabei Gefahr laufen würden, das Deckglas durch das Objektiv zu zerdrücken, das Präparat zu verderben und das Objektiv zu benetzen oder gar zu schädigen; wir müssen vielmehr, von der Seite aus die Bewegung überwachend, zum zweitenmal den Tubus so weit senken, daß die Frontlinse des Objektivs das Deckglas fast berührt, und von neuem beginnen, gleichzeitig in das Okular schauend, den Tubus, und zwar noch langsamer als zuvor, zu heben. Sollte dies Verfahren auch jetzt nicht zum Ziel führen, so dürfen wir annehmen, daß das Objekt nicht im Gesichtsfeld liegt, und müssen es mit Verschiebung des Objektträgers versuchen. Nach kurzer Zeit wird es für alle Fälle gelingen, die Körner im Gesichtsfeld zu erblicken; dann hören wir mit der Handhabung des Triebes, d. h. mit der „groben Einstellung“ auf, um die noch fehlende „feine Einstellung“ mit Hilfe der Mikrometerschraube (*m*, Fig. 56) auszuführen. Diese Schraube drehen wir in einer Richtung fort oder gehen, falls das Bild hierbei undeutlicher wird, in die entgegengesetzte über. Die Einstellung

[1]) Vgl. auch S. 76, 84 und Reg. IV Deckglas-Reinigung.

ist vollendet, wenn das Bild möglichst scharf erscheint. — Beim Drehen der Mikrometerschraube muß man Vorsicht üben. Da sie nur kurz ist, so wird bald ihr Ende erreicht. Ein weiteres Drehen ist für sie von Nachteil. Man suche deshalb schon bei der groben Einstellung in möglichste Nähe der gewünschten Bildschärfe zu gelangen, damit nur eine ganz geringe Bewegung der Schraube nötig sei. — An unserem Stativ (Fig. 56) ist die Mikrometerschraube am oberen Ende der Säule angebracht, sie kann aber an anderen Stativen sich an deren unterem Ende oder auch seitlich (Fig. 57) befinden.

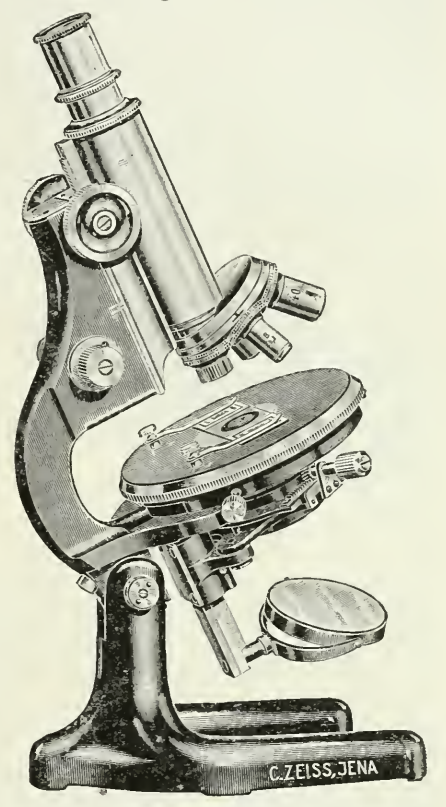


Fig. 57. Stativ BCD von *Zeiss* mit dreh- und zentrierbarem Hartgummitisch D. ($^1/_3$ nat. Gr.)

Sollte der Anfänger ein Mikroskop ohne Zahn und Trieb benutzen, so wird er die grobe Einstellung aus freier Hand zu bewerkstelligen haben. Er senkt und hebt dann den Tubus in der federnden Hülse, wobei er ihn langsam um seine Achse dreht. Bei der Einstellung des Objekts muß er im übrigen dieselben Vorsichtsmaßregeln wie bei der Einstellung durch Zahn und Trieb beobachten.

Haben wir so mit Hilfe der schwächeren Vergrößerung die Existenz kleiner Körner im Gesichtsfeld des Mikroskops festgestellt und uns auch für späteren Gebrauch die Entfernung des schwachen Objektivs vom Objekt, d. h. dessen Objektabstand gemerkt, so lassen wir den Objektträger unverrückt auf dem Objekttisch liegen, heben den Tubus wieder hoch, schrauben das schwache Objektiv ab und ein stärkeres (für alle Fälle aber noch kein Immersionssystem, vielmehr etwa D von *Zeiss*, 7 von *Leitz* oder dgl.) an. Wir senken dann den Tubus wieder, und zwar so tief, daß das Objektiv das Deckglas fast berührt. Hierauf versuchen wir einzustellen, indem wir wie zuvor den Tubus heben. Es muß das jetzt, bei der stärkeren Vergrößerung, womöglich noch langsamer als bei der schwächeren erfolgen. Da das Präparat auf dem Objekttisch unverändert liegen blieb, so wissen wir ja bestimmt, daß das Objekt sich im Gesichtsfeld befindet. Sind die Körner bei der groben Einstellung sichtbar geworden, so vollziehen wir die feine Einstellung mit der Mikrometerschraube. Wir werden finden, daß der Objektabstand bei dem stärkeren Objektiv bedeutend geringer als beim schwächeren ist. — Bei stärkerer Vergrößerung wird das Bild entsprechend lichtschwächer. Wir versuchen es, evtl. durch Änderung der Spiegelstellung, größere Helligkeit des Gesichtsfeldes zu erlangen.

Auch diesmal kontrollieren wir die Erfolge unserer Versuche unmittelbar durch das Okular. Wer sich ein Instrument mit Revolver (Fig. 56 bei *r*, Fig. 58) angeschafft hat[1]), läßt die Objektive dauernd an diesem. Hat er dann den Gegenstand bei der schwachen Vergrößerung eingestellt, so braucht er nur den Revolver zu drehen, bis das stärkere System durch Anschlag die Einstellung in die optische Achse des Mikroskops anzeigt. Dann ist auch, falls der Revolver vom Optiker für die betreffenden Objektive eingerichtet worden ist, das Präparat eingestellt, oder es genügt doch eine nur schwache Bewegung an der Mikrometerschraube, um es scharf einzustellen. Ist das Mikroskop mit Schlitten-Objektivwechsler (Fig. 59, oben) versehen, so wird das Objektiv samt dem Objektivschlittenstück (Fig. 59, unten) aus

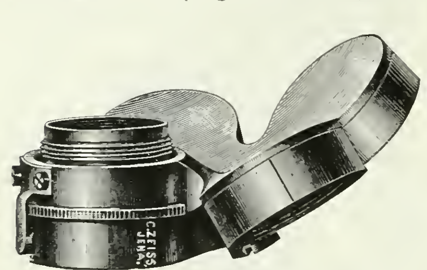


Fig. 58. Revolver für 4 Objektive von *Zeiss*.

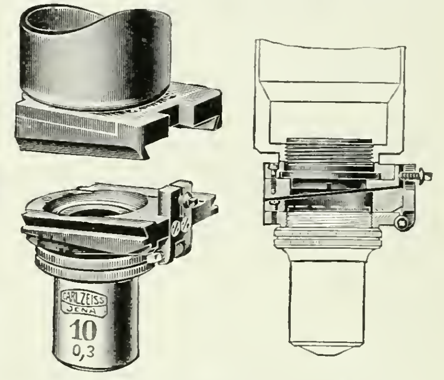


Fig. 59. Schlitten-Objektivwechsler von *Zeiss*.

dem Tubusschlittenstück, das am Tubus mit der Schlittenführung nach vorn befestigt ist, hinausgeschoben, und das andere ebenfalls mit Objektivschlittenstück versehene Objektiv eingeschoben. Da die Führung am Tubusschlittenstück so eingerichtet ist, daß das Objektiv beim Ausrücken etwas gehoben wird, sich somit vom Präparat entfernt, so kann der Tubus beim Wechseln des Objektivs seine Stellung beibehalten. Die Einrichtung wird auch hier vom Optiker so getroffen, daß die Objektive beim Wechseln auf das Objekt eingestellt bleiben. Zeigt sich nach erfolgtem Anschlag das Objektiv nicht ganz genau zentriert, das heißt, nimmt nicht wie zuvor dieselbe Stelle des Objekts die Mitte des Gesichtsfeldes ein, so geschieht die genaue Zentrierung mittels Schrauben, die mit einem Uhrschlüssel gestellt werden. Genau eingestellte Objektive kann man durch einen Klemmring dauernd in ihrer Lage befestigen.

Nach erfolgter Einstellung des Objekts beginnt die eigentliche Beobachtung. Der Anfänger gewöhne sich, soweit seine beiden Augen gleich gut sind, mit dem linken Auge zu mikroskopieren. So bleibt sein rechtes Auge frei; er kann es beim Zeichnen benutzen, während er fortfährt, mit dem linken Auge ins Mikroskop zu sehen. Der Anfänger soll auch gleich lernen, das Auge, das er nicht benutzt, offen zu halten. Zwar werden ihn zunächst die umgebenden Gegenstände, die sich auf der Netzhaut dieses Auges abbilden, stören, doch bald hat er sich gewöhnt, alle Aufmerksamkeit auf das mikroskopische

[1]) Vgl. Einleitung S. 15.

Präparat zu richten, so daß die Bilder aus dem anderen Auge ihm nicht mehr zum Bewußtsein kommen.

Wir erkennen leicht, daß die farblosen Körner, welche das Gesichtsfeld des Mikroskops erfüllen, eine abgerundete Form besitzen und einen geschichteten Aufbau zeigen. Es sind das S t ä r k e k ö r n e r. Wir verschieben langsam den Objektträger, um Stellen zu finden, wo die Körner nicht zu dicht liegen, weil wir sie dort leichter einzeln beobachten können. Auch wählen wir zu anhaltender Betrachtung solche Körner aus, welche die Schichtung besonders deutlich zeigen. Daß die Bewegung des Objektträgers im Mikroskop umgekehrt gesehen wird, bereitet uns wohl nur im ersten Augenblick, wenn wir einzelne ausgewählte Körner in die Mitte des Gesichtsfeldes einstellen wollen, einige Schwierigkeit; wir gewöhnen uns jedenfalls bald daran, die kleinen Bewegungen, auf die es ankommt, hinreichend zu beherrschen. — Haben wir einzelne besonders günstige Körner ausgesucht, so vergrößern wir sie noch mehr, indem wir jetzt das schwache Okular herausnehmen und durch ein stärkeres ersetzen. Das Bild wird bei vollkommenen Objektiven immer noch gut bleiben, aber für alle Fälle an Lichtstärke verlieren. Wir suchen evtl. durch Verbesserung der Spiegelstellung diesem Übelstand so weit wie möglich zu begegnen.

Hin und wieder wird nach Einstellung oder nach Verschiebung des Präparats auffallen, daß das Bild an Deutlichkeit verloren hat. Dann ist aller Wahrscheinlichkeit nach Flüssigkeit vom Deckglasrand aus an die untere Linse des Objektivs gelangt. Dieses wird namentlich dann leicht geschehen, wenn zu große Flüssigkeitsmengen zur Herstellung des Präparates benutzt wurden. Man hebt dann den Tubus durch Zahn und Trieb oder zieht ihn in der Hülse empor und reinigt die Frontlinse des Objektivs mit einem reinen, oft gewaschenen Leinwandläppchen bzw. dem schon erwähnten japanischen Reispapier oder Kreppapier, reibt sie wohl auch mit der frischen Bruchstelle eines Holundermarkstückchens ab.

Während der Anfänger gut tut, sich bei seinem ersten Beobachtungsversuch auf die Anwendung von Trockensystemen zu beschränken, wird der Geübtere hier mit Vorteil sein Objektiv für Wasserimmersion oder für homogene Immersion benutzen können. Da der Objektabstand solcher Objektive ein sehr geringer ist, wird er nur entsprechend dünne Deckgläser für seine Präparate verwenden dürfen[1]). Bei Benutzung des Objektivs für W a s s e r i m m e r s i o n muß er zunächst einen kleinen Tropfen Aq. dest. auf die Frontlinse seines Objektivs bringen. Dieser Tropfen kommt dann beim Hinabschrauben des Tubus mit dem Deckglas in Berührung und bildet eine dünne Wasserschicht zwischen diesem und dem Objektiv. Man hat darauf zu achten, daß dieser Wassertropfen während der Beobachtung nicht austrocknet; er ist zwischen Deckglas und Objektiv vor Verdunstung übrigens so geschützt, daß er meist mehrere Stunden aushält (vgl. im übrigen S. 10). Bei Verschiebung des Objektträgers darf der Immersionstropfen nicht an den Rand des Deckglases gelangen, wo er sich mit der Untersuchungsflüssigkeit vermischen würde. Sollte dieses dennoch geschehen sein, so ist das Objektiv sofort zu reinigen und die auf dem Deckglas befindliche Flüssigkeit zu entfernen. — Kennt man die Dicke des Deckglases nicht, so ist die Korrektion, wenn nötig, während der Beobachtung am Objektiv

[1]) Vgl. Einleitung S. 12 u. 42.

vorzunehmen. Man dreht, während man beobachtet, den Ring nach der einen und der anderen Seite (s. S. 12), bis das Bild scharf ist. Da die Korrektions-Fassung fast bei allen Optikern so eingerichtet ist, daß die Frontlinse in ihrer Stellung verharrt und nur die oberen Linsen des Systems bewegt werden, so bleibt das Objekt während der Korrektion annähernd eingestellt. — Auf die Frontlinse eines Objektivs für homogene Immersion wird ein Tropfen der vom Optiker gelieferten Immersionsflüssigkeit[1]) (eingedicktes Zedernholzöl) gebracht (vgl. S. 10). Man beschränke sich hierbei auf die kleinste Menge der Immersionsflüssigkeit, da diese nicht verdunstet und somit während der Beobachtung nicht ersetzt zu werden braucht. Wie bei der Wasserimmersion hat man auch hier darauf zu achten, daß bei Verschiebung des Objektträgers die Immersionsflüssigkeit nicht an den Deckglasrand gelange. Statt auf die Frontlinse des Objektivs läßt sich der Immersionstropfen, Wasser sowohl als Zedernholzöl, dem Deckglas aufsetzen. Man schraubt dann den Tubus hinab, bis das Objektiv mit dem Tropfen auf dem Deckglas in Berührung kommt. Dieses Verfahren ist bequemer, hat aber den Nachteil, daß sich manchmal ein Luftbläschen in der Immersionsflüssigkeit einfängt, was dann das Bild bedeutend stört, es unter Umständen gar nicht zustande kommen läßt. Da die Möglichkeit, daß eine Luftblase sich einfängt, auch bei Anbringung des Tropfens am Objektiv nicht ganz ausgeschlossen ist, so hat man diese Ursache plötzlich sich einstellender Störungen im Bilde stets bei der Arbeit mit Immersionssystemen zu beachten. Die Luftblasen sind leicht zu erkennen, wenn man nach Einstellung des Objektivs das Okular entfernt: beim Blick in den offenen Tubus zeigen sich die Bläschen dann als leuchtende Punkte. Durch Streichen mit dem Stäbchen über die Frontlinse des Objektivs lassen sie sich entfernen. Zum Abwischen des Objektivs diene ein vollkommen reines, oft gewaschenes Leinwandläppchen, das man mit einigen Tropfen Benzin befeuchten kann. Um das Immersionsöl vom Deckglas zu entfernen, benutze man am besten einen mit Chloroform getränkten Pinsel.

Falls der Beobachter über ein größeres Stativ verfügt, das mit Abbeschem Beleuchtungsapparat ausgerüstet ist (Fig. 57), wird er auch diesen gleich verwerten. Der unter dem Objekttisch des Stativs angebrachte Abbesche Beleuchtungsapparat (Fig. 4) läßt alle Abstufungen der Beleuchtung zu, so daß er mit Vorteil auch bei schwacher Vergrößerung benutzt werden kann. Die jetzigen Konstruktionen (s. S. 16) ermöglichen außerdem ein seitliches Herausklappen des Kondensorsystems, so daß der Spiegel dann allein zur Wirkung kommt. Man wende den Apparat mit dem Planspiegel an; nur bei ganz schwachen Objektiven stelle man den Hohlspiegel ein, wenn nämlich der Planspiegel das ganze Gesichtsfeld nicht gleichmäßig erleuchtet. Bei Benutzung des Apparats ist die Irisblende stets entsprechend zu verengen, was mit Hilfe des an ihr angebrachten Knöpfchens (*p* in Fig. 4) zu geschehen hat. Nur bei gefärbten Objekten kann es unter Umständen Vorteil bringen, die Irisblende ganz zu öffnen und den vollen Lichtkegel des Apparats einfallen zu lassen. Dann verschwinden die Umrisse der Objekte, und die gefärbten Stellen treten um so wirksamer hervor. Doch darauf kommt es bei der gewöhnlichen Beobachtung nicht an: da gilt es vielmehr, die Irisblende soweit als tunlich einzuengen, weil die Umrisse im Bilde dadurch schärfer werden. Eine Handhabe (in Fig. 4 links von *p*) am Abbeschen Beleuchtungsapparat

[1]) Vgl. auch R. Wasicky, Zeitschr. f. wiss. Mikr., Bd. XXXVII, 1920, S. 206.

gestattet auch eine Schiefstellung der Irisblende, wodurch man schiefe Beleuchtung erzielt; mit derselben Handhabe kann alsdann auch die Irisblende gedreht und die schiefe Beleuchtung somit von verschiedenen Seiten aus zur Wirkung gebracht werden. Doch schiefe Beleuchtung wendet man nur in ganz bestimmten Fällen an, im allgemeinen beobachtet man bei gerade einfallendem Licht.

Die Stärkekörner der Kartoffelknolle erreichen eine relativ beträchtliche Größe und weisen verhältnismäßig deutliche Schichtung auf. — Die Schichten sind kenntlich, weil sie das Licht verschieden stark brechen, was durch ihre verschiedene Dichte bedingt ist; dabei erscheinen die dichteren Lagen hell, die weniger dichten dunkler. Diese Stärkekörner gehören zu den exzentrisch gebauten, da ihr Initialpunkt oder Bildungskern *c*, Fig. 60*A*, nicht im geometrischen Zentrum, vielmehr dem einen Ende des Korns bedeutend näher liegt. Die Schichten sind ungleich stark und zeichnen sich mit verschiedener Schärfe (*A*). Gegen die Oberfläche des Korns hin wird die Schichtung undeutlich. Der Bildungskern erscheint aus optischen Gründen wegen seiner geringeren Dichte rötlich gefärbt. Am deutlichsten tritt er dort hervor, wo er ausgehöhlt ist. Er zeichnet sich dann als rötlicher Punkt, Strich, als Kreuz oder Stern mit dunklem Umriß. Die den Bildungskern unmittelbar umgebenden Schichten sind konzentrisch ausgebildet; weiter nach außen macht sich aber die Exzentrizität geltend, indem die Schichten gegen das eine Ende des Korns an Dicke zunehmen. An dem schwächer entwickelten Ende des Korns, das wir als vorderes Ende bezeichnen wollen, ist die Schichtung nur undeutlich. Die einzelnen Körner schwanken bedeutend in ihrer Größe, auch weichen sie in ihrer äußeren Gestalt nicht unwesentlich voneinander ab und zeigen die Schichtung mit verschiedener Schärfe. An den kleinsten Körnern ist von einer Schichtung kaum etwas zu erkennen. Die Stärkekörner der Kartoffel sind kaum abgeflacht, wie sich das feststellen läßt, wenn man während der Beobachtung mit einer Nadel vorsichtig gegen den Deckglasrand drückt und so die Körner ins Rollen bringt.

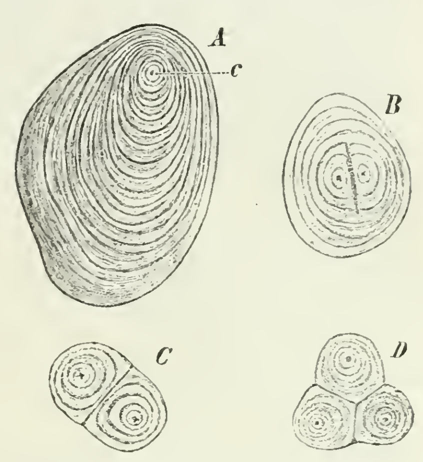


Fig. 60. Stärkekörner aus der Kartoffelknolle. *A* ein einfaches, *B* ein halbzusammengesetztes, *C* und *D* ganzzusammengesetzte Stärkekörner. *c* der Bildungskern. Vergr. 540.

Zwischen den Stärkekörnern wird man in den meisten Präparaten runde Gebilde finden, die bei mittlerer Einstellung ein kleines, rundes, helles Zentrum und eine breite, dunkle Randzone zeigen; letztere ist nach innen zu schwarz, nach außen dunkelgrau und von hellen, konzentrischen Ringen unterbrochen. Diese Gebilde sind in der Beobachtungsflüssigkeit eingeschlossene Luftbläschen. Ihr Aussehen unter dem Mikroskop ist so charakteristisch, daß sie, in ihrer Bedeutung

einmal erkannt, mit anderen Dingen kaum verwechselt werden können. Die Lichtstrahlen, welche aus dem dichteren Medium in die Luftblase treten, werden mit Ausnahme der mittleren so stark abgelenkt, daß sie nicht in das Objektiv gelangen können, daher der breite, dunkle Rand und die relativ nur kleine, helle Mitte. Wird durch Drehung der Mikrometerschraube der Tubus gesenkt, so daß die unteren Teile der Luftblase zur Einstellung kommen, so steigt die Schärfe und Helligkeit der mittleren Scheibe; sie nimmt zugleich an Größe ab, während die Breite der umgebenden schwarzen Ringe wächst. Bewegt man die Schraube in umgekehrter Richtung, um die oberen Teile der Luftblase einzustellen, so wächst die mittlere Scheibe, an Helligkeit etwas verlierend; es tauchen graue Ringe verschiedener Helligkeit um sie auf; der umgebende Rand wird gleichzeitig schmäler.

Hat der Beobachter ein schön geschichtetes Stärkekorn ausgewählt, so soll er es zeichnen. Auf das Zeichnen ist bei der mikroskopischen Beobachtung das allergrößte Gewicht zu legen. Mit seiner Hilfe lernt man vor allem scharf sehen. Denn die Einzelheiten des Bildes werden dem Beobachter erst gegenwärtig, wenn er zum Zweck ihrer Wiedergabe seine ganze Aufmerksamkeit auf sie richtet. Das Zeichnen schützt somit vor flüchtiger, oberflächlicher Betrachtung, zwingt uns zu einem eingehenden, gründlichen Studium des Bildes und schärft mehr denn jedes andere Mittel unsere Beobachtungsgabe. Der Anfänger soll zunächst aus freier Hand die Objekte wiederzugeben suchen. Soviel Zeichentalent, als hierzu nötig, wird er wohl besitzen, oder doch die nötige Fertigkeit durch Übung leicht erlangen können. Der Gegenstand darf nicht zu klein dargestellt werden, auch wenn der Beobachter ihn sehr klein zu sehen glaubt. Ein richtiges Urteil über die Größe der Objekte im Gesichtskreis des Mikroskops gewinnt man erst durch längere Übung, und es ist zunächst besser, daß der Anfänger die Gegenstände zu groß zeichne, um bequem alle Einzelheiten der Beobachtung in seine Figuren eintragen zu können. Nicht minder wichtig ist es, die verschiedenen Teile des Bildes mit entsprechenden schriftlichen Bezeichnungen zu versehen und den Namen der Pflanze, den Gegenstand der Beobachtung und deren wichtigste Ergebnisse neben der Figur zu notieren.

Außer den einfachen Körnern (wie bei *A*, Fig. 60) findet man nach einigem Suchen auch halb zusammengesetzte (wie bei *B*). Diese Körner schließen zwei, seltener mehr Bildungskerne ein. Jeder Bildungskern weist zunächst eigene Schichten auf; beide zusammen sind von einer größeren oder geringeren Anzahl gemeinsamer Schichten umgeben. Nicht selten zeigen sich die beiden inneren Schichtenkomplexe durch einen Spalt, der bis zu den gemeinsamen äußeren Schichten reicht (*B*), gegeneinander abgegrenzt. Die Zahl der den einzelnen Körnern eigenen, sowie der ihnen gemeinsam zukommenden Schichten, ist je nach dem Einzelfall verschieden.

Ganzzusammengesetzte Körner, die man weit häufiger als die halbzusammengesetzten findet, bestehen aus zwei (*C*), seltener aus drei (*D*), sehr selten aus mehr als drei Teilkörnern. Zum Unterschied von den halbzusammengesetzten Stärkekörnern fehlen den ganzzu-

sammengesetzten die gemeinsamen Schichten. In der Verbindungslinie der Teilkörner sind die Schichten am stärksten entwickelt. Die Teilkörner kehren somit ihre hinteren Enden einander zu, ihre vorderen Enden voneinander ab. Die Trennungslinie zwischen je zwei Teilkörnern erweitert sich nach innen öfters zu einem Spalt.

Zum Vergleich stelle man nunmehr ein Präparat aus lufttrocken aufbewahrter Kartoffelstärke, dem sogenannten Kartoffelmehl, her. Man verfahre hierbei ganz ähnlich, wie bei Anfertigung des ersten Präparats und übertrage eine Spur des Mehls in einen Wassertropfen. Da die Objektträger verschieden dick sein können, so empfiehlt es sich, den Tubus zu heben, bevor das zweite Präparat untergeschoben wird. Nach erfolgter Einstellung des Präparats finden wir, daß die Schichtung der Körner mindestens ebenso scharf, wie die der zuvor untersuchten, frischen ist.

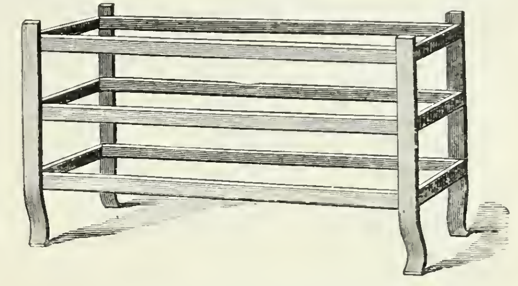


Fig. 61. Zinkgestell zur Aufnahme von Präparaten.

Das erste Präparat bringt man, da es später noch gebraucht werden soll, in eine große feuchte Kammer. Diese feuchte Kammer besteht aus einem tiefen Teller und einer Glasglocke. Auf dem Teller steht ein passendes Gestell, etwa das oben abgebildete Zinkgestell[1]) (Fig. 61); man gieße außerdem so viel Wasser in den Teller, daß die Glasglocke mit ihrem unteren Rand darin eintauche. Das Präparat legen wir auf das Zinkgestell. Zuvor aber überzeugen wir uns, ob der Wassertropfen unter dem Deckglas des Präparats nicht etwa zum Teil schon verdunstet ist. Sollte dies der Fall sein, so setzen wir am Rand des Deckglases einen neuen Wassertropfen hinzu, der kapillar unter das Deckglas eingesogen wird. Auch bezeichnen wir unseren Objektträger mit einem auf Glas schreibenden Farbenstift von *Faber*, damit das Präparat später nicht mit anderen verwechselt werde.

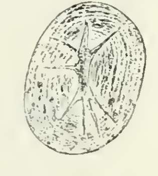
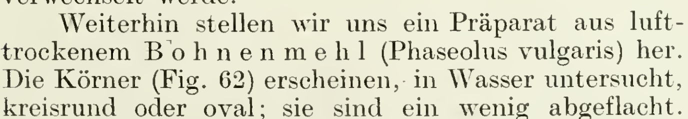




Fig. 62. Stärkekörner aus den Kotyledonen von Phaseolus vulgaris. Vergr. 540.



Weiterhin stellen wir uns ein Präparat aus lufttrockenem Bohnenmehl (Phaseolus vulgaris) her. Die Körner (Fig. 62) erscheinen, in Wasser untersucht, kreisrund oder oval; sie sind ein wenig abgeflacht. Eine bestimmte mittlere Größe herrscht bei ihnen vor. Die Schichtung ist deutlich und sehr gleichmäßig ausgebildet; die Lamellen zeigen fast übereinstimmende Dicke. Der Bau ist zentrisch. Der Bildungskern der im Wasser untersuchten Körner erscheint ausgehöhlt, ist mehr isodiametrisch in den runden, gestreckt in den ovalen Formen. Von der Höhlung des Bildungskerns gehen radial gerichtete Spalten aus, welche die Schichten rechtwinklig durchsetzen und, sich verengend, fast die Peripherie des Korns erreichen.

[1]) Bei *C. Gerhardt*-Bonn etwa 100 M. Bei *Bartsch, Quilitz & Co.*-Berlin 60 M.

Eine Spur des Bohnenmehls untersuchen wir hierauf in einem Tropfen konzentrierten Glyzerins, statt in Wasser. Die Stärkekörner erscheinen in dieser Flüssigkeit durchschnittlich kleiner; von Schichtung lassen sich kaum Spuren erkennen; es fehlen die innere Höhlung und die Spalten. Letztere waren somit bei dem im Wasser untersuchten Bohnenmehl erst infolge der Quellung und der damit verbundenen Größenzunahme der Körner aufgetreten.

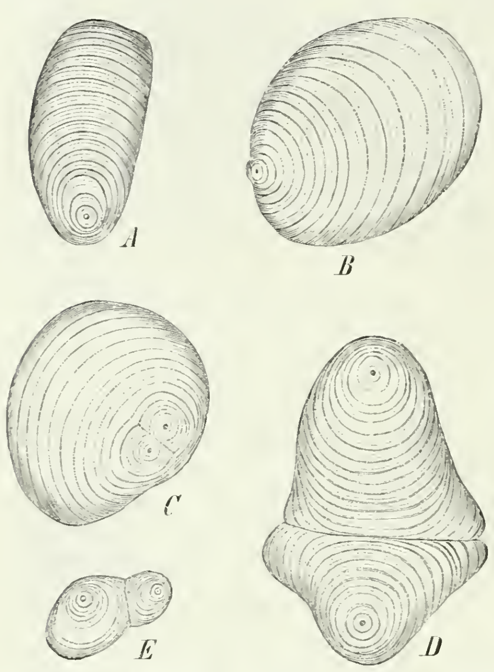


Fig. 63. Stärkekörner aus dem Rhizom von Canna indica. *A* und *B* einfache Körner, *C* ein halbzusammengesetztes, *D* und *E* ganzzusammengesetzte Körner. Vergr. 540.

Sehr interessant sind die Stärkekörner aus dem Wurzelstock von Canna indica, von denen man sich nunmehr ein Präparat herstellen möge. Man durchschneide zu diesem Zweck den Wurzelstock und schabe ein wenig Substanz mit dem Messer von der Schnittfläche ab. Auch diese Körner untersuchen wir zunächst in Wasser. Sie sind relativ flach, sehr exzentrisch gebaut, von ungleicher Größe und sehr verschiedenem Umriß. Die Schichtung ist sehr leicht zu sehen und regelmäßig; die Schichten keilen sich alsbald seitlich aus, ohne das Korn weiter zu umfassen (Fig. 63 *A*). Manchmal ist der Bildungskern so exzentrisch, daß er samt den älteren Schichten am vorderen Ende des Korns vorspringt (*B*). Häufig begegnet man hier Körnern mit zwei und mehr nebeneinander liegenden, nur von wenig eigenen Schichten umgebenen Bildungskernen (*C*). Sehr schöne, ganzzusammengesetzte Körner treten uns ebenfalls entgegen (*D* u. *E*). In *D* steht die Längsachse der beiden Stärkekörner senkrecht auf deren Trennungsfläche. Oft sitzt auch ein Kern seitlich einem anderen an (*E*). Die Längsachsen fallen dann nicht zusammen und sind auch nicht senkrecht zur Trennungsfläche gerichtet.

Ähnlich der Canna-Stärke ist die des ostindischen Arrow-root aus den stärkereichen Wurzelstöcken der in Vorderindien kultivierten Zingiberaceen Curcuma angustifolia und leucorrhiza. Man stelle hier ein Präparat von der käuflichen Stärke her, die freilich nicht immer leicht zu bekommen ist. Hat man wirklich echtes ostindisches Arrow-root vor sich, so müssen die Körner sehr exzentrischen Bau zeigen (Fig. 64 *A*), am vorderen Ende verjüngt, schön und regelmäßig geschichtet und sehr flach sein. Oft haften die Körner in größerer Anzahl mit ihren flachen Seiten aneinander und sehen, von der Kante betrachtet, wie Geldrollen aus (*B*). Die Größe und die Gestalt der Körner schwankt nicht unbeträchtlich.

Große Ähnlichkeit mit den Stärkekörnern der Kartoffel zeigt das westindische Arrow-root, auch einfach „Arrowroot“ genannt, das aus dem Wurzelstock von Maranta, vornehmlich von Maranta arundinacea stammt. Es ist käuflich leicht zu haben. Wir untersuchen es in Wasser. Die Körner sind im Durchschnitt kleiner als jene der Kartoffel, übereinstimmender in ihrer Größe, etwas mehr abgerundet; die Schichtung zeigen sie meist gleichmäßiger, doch weniger deutlich. An Stelle des Bildungskerns findet man meist einen Spalt in der Gestalt eines offenen V.

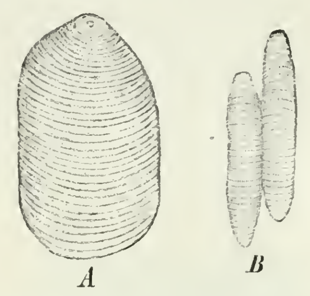


Fig. 64. Stärkekörner des käuflichen ostindischen Arrow-root (aus dem Wurzelstock von Curcuma leucorrhiza). *A* von der Fläche, *B* zwei aneinanderhaftende Körner von der Kante. Vergr. 540.

Zu den größten und schönsten Stärkekörnern gehören die aus den Scheinknollen von Phajus grandifolius. Diese Orchidee wird in den Warmhäusern botanischer Gärten vielfach kultiviert und kann von Handelsgärtnern für einen verhältnismäßig geringen Preis bezogen werden. Wir werden sie als wertvolles Objekt bei einer späteren Gelegenheit noch kennenlernen und müssen daher auf ihren Besitz Wert legen. Man durchschneide eine Scheinknolle, schabe etwas Gewebe von der Schnittfläche ab und spüle es im Wassertropfen des Objektträgers ab. Eine hinreichende Anzahl von Stärkekörnern gelangt so in den Tropfen, aus dem man die Gewebestücke wieder entfernt. Die Stärkekörner der Scheinknollen von Phajus grandifolius erreichen eine besonders auffallende Größe. Sie sind spitzkegelförmig (Fig. 65 *A*), ein wenig abgeflacht, lang gestreckt, stark exzentrisch, deutlich, doch nicht gleichmäßig geschichtet. Die Schichten endigen an den Seitenflächen des Korns, meist nur wenig übereinandergreifend. Die Größe der Körner schwankt nicht unbeträchtlich, noch mehr der Umriß. Es kommen hier sehr unregelmäßige Formen vor, hauptsächlich dadurch bedingt, daß die ursprüngliche Richtung der Schichtenbildung verändert wurde. Fig. 65*B* stellt uns ein Korn vor mit seitlich ansitzendem Schichtenkomplex. Mehr oder weniger gekrümmte Körner vermitteln zwischen solchen Formen wie *A* und *B*. Der Schichtenverlauf entspricht bei den gekrümmten Formen ganz allgemein dem in *B* dargestellten.

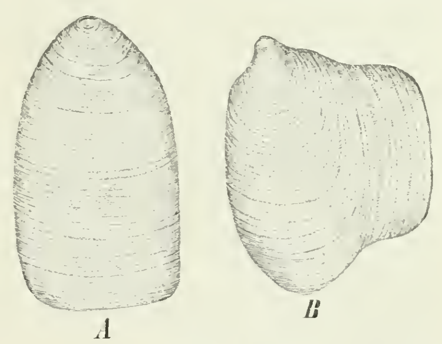


Fig. 65. Stärkekörner aus der Scheinknolle von Phajus grandifolius. Vergr. 540.

In Stärkekörnern des Weizenmehls läßt sich die Schichtung nur sehr schlecht erkennen. Als die für die Beobachtung geeignetsten wähle man die Stärkekörner von Triticum durum aus. Man halbiere das Weizenkorn mit dem Taschenmesser und schabe ein wenig Substanz von der Schnittfläche ab, um sie in einen Wassertropfen auf den Objektträger zu bringen. Die großen Stärkekörner

sind kreisrund, scheibenförmig abgeflacht und regelmäßig geschichtet (Fig. 66 *A*), doch die Schichten kaum sichtbar. An manchen Körnern wird man sie, sowie den Bildungskern immerhin erkennen. Charakteristisch für dieses Mehl sind die kleinen Stärkekörner, die ohne vermittelnde Zwischenstufen sich den großen untermengt zeigen. Diese kleinen Körner lassen einen rosafarbigen Bildungskern, doch keine Schichtung erkennen. Eine Anzahl solcher Körner ist bei *B* dargestellt. In manchen Präparaten sind zusammengesetzte Körner nicht eben selten, in den meisten sucht man nach ihnen vergeblich, da sie in ihre Teilkörner zerfallen sind.

Um unversehrte zusammengesetzte Stärkekörner des Weizens unter dem Mikroskop studieren zu können, muß man ganze Weizenkörner in

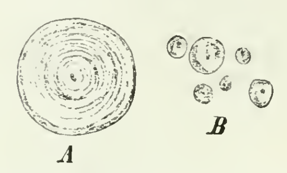


Fig. 66. Weizenmehl von Triticum durum. *A* ein großes, *B* kleine Körner. Vergr. 540.

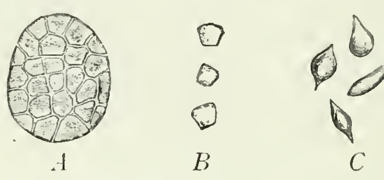


Fig. 67. Stärke von Avena sativa. *A* ein zusammengesetztes Korn, *B* Teilkörner, *C* spindel- und tropfenförmige Einzelkörner. Vergr. 540.

Wasser quellen lassen[1]). Es tritt dann nach einigen Tagen zunächst Mazeration des Endospermgewebes ein; später reißen die Zellwände auf, und die Stärke wird frei. Dieser Prozeß dauert etwa eine Woche. Eine kleine Partie des Endosperms wird nun in einen Tropfen Wasser oder verd. Glyzerin auf den Objektträger gebracht und vorsichtig das Deckglas aufgelegt. Man wird dann einen Teil der zusammengesetzten Körner noch unversehrt vorfinden und imstande sein, die Zahl der einzelnen Teilkörner, die bis zu 25 in einem zusammengesetzten Korn betragen kann[2]), zu bestimmen. An einzelnen Großkörnern wird man kraterartige Vertiefungen oder auch eine größere Zahl dicht aneinander grenzender, flacherer Vertiefungen, wodurch das Korn eine netzartige Oberflächenstruktur erhält, bemerken können. Die vertieften Stellen dürften den Ansatzstellen von Kleinkörnern, die in demselben Chromatophor mit dem Großkorn erzeugt wurden, entsprechen[3]) und nicht, wie früher[4]) angenommen wurde, als Auflösungserscheinungen zu deuten sein.

Ganz ähnlich der Weizenstärke ist die des Roggens (Secale cereale) gebaut, so daß beide morphologisch unter dem Mikroskop nicht zu trennen sind. Eine Unterscheidungsmöglichkeit ist jedoch in ihrem Verhalten gegen Natriumsalizylat (1 : 11)[5]) gegeben. Roggenstärke ist darin nach einer Woche

[1]) Ad. Peter, Österr. bot. Zeitschr., L. Jahrg., Nr. 9, 1900, S. 315 ff.

[2]) Vgl. auch J. Wiesner, Mikroskopische Untersuchungen, Stuttgart 1872, S. 75, und: Die Rohstoffe des Pflanzenreiches, 3. Aufl., Bd. II, Leipzig 1918, S. 66, 67.

[3]) Ad. Peter, l. c., ferner A. Meyer, Untersuchungen über die Stärkekörner, Jena 1895, S. 273.

[4]) C. Naegeli, Die Stärkekörner, Zürich 1858, S. 126.

[5]) Nach W. Lenz, Apothekerztg. 1910, S. 777. Im übrigen wende man sich, wenn es sich um die Unterscheidung einzelner Mehlarten unter dem Mikroskop handelt, an einschlägige Werke, wie A. F. W. Schimper, Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel, 2. Aufl., Jena 1900, J. Moeller, Mikroskopie der Nahrungs- u. Genußmittel aus dem Pflanzenreiche, 2. Aufl., Berlin 1905, s. a. Reg. IV Stärke.

vollständig verquollen; die Umrisse der einzelnen ineinandergefalteten Körnchen sind dann kaum mehr sichtbar. Auch Weizenstärke ist nach einer Woche verquollen, doch sind bei ihr selbst nach mehrmonatlicher Wirkung des Reagens die Umrisse meist zart, aber klar und deutlich gezeichnet. — Arrowroot und Kartoffelstärke verquellen in Natriumsalizylat nicht.

Es mag unter Umständen darauf ankommen, in einem Gemisch verschiedener Stärkesorten das quantitative Verhältnis zu bestimmen, in welchem jede dieser Sorten vertreten ist. Hierzu, wie zu anderen ähnlichen Zwecken, kann eine sog. Zählkammer dienen, wie sie von *Zeiss* (Preisblatt Mikro 351e, Nr. 12 66 00) zum Preise von 250 M zu beziehen ist. Sie besteht aus einem Objektträger, dem eine 0,1 mm dicke, mit kreisförmigem Ausschnitt versehene Glasplatte aufgekittet ist. Auf dem durch den Objektträger gebildeten Boden der so entstandenen Kammer ist eine Netzteilung eingeritzt, die aus 400 Quadraten von je $^1/_{400}$ qmm Fläche besteht (Objekt-Netzmikrometer). In diese Kammer bringt man die das Stärkegemisch enthaltende Flüssigkeit und legt ein plangeschliffenes Deckglas dicht dem Rand der Kammer auf. Der Kubikinhalt der über einem Quadrat der Netzteilung stehenden Flüssigkeit beträgt dann $^1/_{4000}$ cmm. Das Verhältnis der Menge der verschiedenen Stärkekörner zueinander in einem solchen begrenzten Raum kann nun durch Zählen unter dem Mikroskop festgestellt werden. Zur Zählung mit schwächeren Objekten benutze man Deckgläser von 0,4 mm Dicke (Einzelpreis 8 M; zwei sind in dem Preise der Zählkammer einbegriffen). Sollte es wünschenswert erscheinen, die Präparate mit stärkeren Systemen, von 4 mm Brennweite und darunter, zu beobachten, so verwende man einseitig plangeschliffene Deckgläser von ca. 0,18 mm Dicke, die auf einen dicken Glasrahmen mit konischem Ausschliff aufgekittet sind. Zur geeigneten Verdünnung der stärkehaltigen Flüssigkeit kann man genau kalibrierte Mischpipetten (*Zeiss* Mikro 351e, Nr. 12 73 00, Preis 108 M) verwenden. Auch *Leitz* liefert Zählkammern; die *Leitz*sche Zählkammer nach Thoma ist in der Figur 68 abgebildet. Bei *Leitz* kostet ein Objektträger mit Kammer und Okularnetzmikrometer (Katalog 46 D, Nr. 161) 320 M. *Seibert* führt ebenfalls 0,1 mm tiefe Zählkammern (Nr. 58 mit 2 Deckgläsern, 0,4 und 0,6 mm dick, mit Etui zu 520 M). Die Zählung kann auch mit einer Okularzählplatte[1]) (Okularnetzmikrometer) durchgeführt werden, die in Verbindung mit der Zählkammer verwendet wird. Da hierbei die Zählung nicht nur an den Stellen der Kammer, welche das Netz deckt, sondern an beliebigen Teilen erfolgen kann, also die Einstellung der Zählplatte unabhängig von der Zählkammer ist, und da ferner die Schwärze der Linien der auf photographischem Wege hergestellten Platte im Gegensatz zu dem in Glas geritzten Netz von Vorteil ist, wird diesem Verfahren in vielen Fällen der Vorzug zu geben sein. *Zeiss* liefert solche Plättchen mit Netzbildung, die auf die Blende eines einstellbaren Okulars mit abschraubbarem Oberteil mit der Teilung nach unten gelegt werden, mit quadratischen Feldern von 1 mm oder 0,5 mm Seitenlänge. (Okularnetzmikrometer, *Zeiss* Mikro

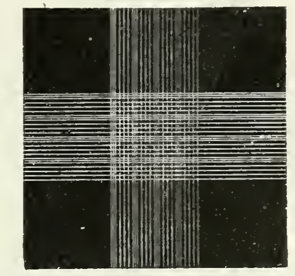


Fig. 68. Zählkammer nach Thoma.

[1]) C. Mez, Münch. med. Wochenschr., Jahrg. LXI, 1914, Nr. 18, S. 991.

184, Nr. 11 51 60 bzw. 11 51 65 zu je 200 M; einstellbare Okulare, *Zeiss* Mikro 184, Nr. 11 52 03 600 M, Nr. 11 54 06 1000 M). Die Firma *Leitz* liefert ebenfalls Okularnetzmikrometer (Katalog 46 D, Nr. 157, Preis 200 M).

Die Stärkekörner des Hafers (Avena sativa) gewinnen wir am besten, indem wir ein Haferkorn halbieren und ein wenig von seinem Inhalt im Wassertropfen zur Beobachtung bringen. Hier treten uns oft in großer Klarheit die zusammengesetzten Körner entgegen. Ein solches Korn ist in der Figur 67 *A* dargestellt. Die Größe dieser zusammengesetzten Körner ist verschieden und demgemäß auch die Zahl der in ihre Bildung eingehenden Teilkörner. Unsere Fig. 67 *A* führt uns ein solches zusammengesetztes Korn mittlerer Größe vor. Die einzelnen Teilkörner erscheinen polygonal, durch heller sich zeich-



Fig. 69. Fig. 70.

Fig. 69. Stärkekörner aus den Milchröhren von Euphorbia helioscopia. Vergr. 540.
Fig. 70. Stärkekörner aus den Milchröhren von Euphorbia splendens. Von dem einen Korn *A* hat sich der Stärkebildner blasenförmig abgehoben. Vergr. 540.

nende Linien voneinander abgegrenzt. Zwischen den großen Körnern sieht man kleine, bis zu solchen herab, die nur aus zwei Teilkörnern bestehen; schließlich auch ganz einfache, unter welchen vor allem spindel-, auch tropfenähnlich gestaltete, für die Haferstärke besonders charakteristische Körner auffallen (*C*); außerdem treten uns aber auch zahlreiche eckige Teilkörner (*B*) entgegen, die von den durch die Präparation zertrümmerten, größeren zusammengesetzten Körnern stammen. Eine bestimmte mittlere, etwa unserer Figur 67 *A* entsprechende Größe ist vorwiegend unter den zusammengesetzten Körnern vertreten. Eine Schichtung ist bei dieser Stärke nicht zu sehen; ihre Bildungskerne sind nur ganz ausnahmsweise zu erkennen.

Von ganz eigenem Aussehen sind die Stärkekörner in dem Milchsaft der Wolfsmilcharten (Euphorbien). Man schneidet ein beliebiges Stengelstück einer Wolfsmilchart, beispielsweise der überall verbreiteten Euphorbia helioscopia, ab und taucht die Schnittfläche in den auf dem Objektträger bereitgehaltenen Wassertropfen ein. Der zur Schnittfläche herausgetretene Zellinhalt verteilt sich emulsionsartig in dem Tropfen. In ihm können wir vereinzelte, kleine, stäbchenförmige Körper erkennen (Fig. 69). Es sind das die in Betracht kommenden Stärkekörner. Sie erscheinen ziemlich stark lichtbrechend; eine Schichtung ist in den günstigsten Fällen nur angedeutet, manchmal ein Längsspalt im Innern des Korns zu erkennen. Die Größe der Stäbchen ist etwas schwankend; manche zeigen sich in der Mitte ein wenig angeschwollen. — Viel schöner geformte Körner besitzen die tropischen Euphorbien. Wählen wir die in den Gewächshäusern häufige Euphorbia splendens für die Beobachtung

und stellen das Präparat in derselben Weise her, wie dies zuvor mit E. helioscopia geschehen. Die Stärkekörner, die uns jetzt entgegentreten (Fig. 70), haben Knochenform (Humerusform); sie erscheinen an ihren beiden Enden mehr oder weniger angeschwollen, sind etwas größer als die unserer einheimischen Euphorbien unl lassen an den angeschwollenen Stellen auch etwas Schichtung erkennen. Sehr häufig sieht man von den Seiten des Korns sich eine farblose Blase abheben (A), die jedoch nicht auf die Substanz des Stärkekorns, vielmehr auf die des durch Wasseraufnahme sich blähenden Stärkebildners (s. IV. Abschnitt) zurückzuführen ist.

Dem Beobachter muß es auffallen, daß die kleinen, im Wasser verteilten Milchsaftkügelchen in zitternder Bewegung begriffen sind. Es ist das die sog. BROWNsche Molekularbewegung, die man somit bei dieser Gelegenheit kennenlernen kann und die nicht auf eine Lebenserscheinung, sondern auf die rein mechanisch erfolgende Bewegung der Flüssigkeits-Moleküle zurückgeführt wird[1]). Diese Bewegung mikroskopisch kleinster Teilchen kann man auch mit bloßem Auge wahrnehmen, wenn man das, einen Tropfen des Milchsafts enthaltende, Präparat im direkten Sonnenlicht beobachtet. Der Objektträger muß dabei in deutlicher Sehweite vertikal oder schief gehalten werden, so daß das direkte Sonnenlicht schief einfällt. Wenn man nun bei durchfallendem Licht betrachtet, dann tritt uns die Molekularbewegung, ein lebhaftes Tanzen und Wimmeln der kleinen, in prachtvollen Interferenzfarben schimmernden Teilchen, klar entgegen. Noch deutlicher wird die Erscheinung, wenn man ein mattschwarzes Papier in einer Entfernung von ca. 3—5 cm vom Objektträger hält. Auch unter dem Mikroskop lassen sich bei ganz schwachen Vergrößerungen unter Zuhilfenahme einer sehr einfach erreichten Dunkelfeldbeleuchtung, ohne die bei sonst gleichen Bedingungen die kleinen Teilchen und ihre Bewegungen nicht wahrzunehmen wären, diese sichtbar machen. Man blendet einfach mit der Hand von der Hälfte des Spiegels das Sonnenlicht ab. So bewirkt man eine unvollkommene Dunkelfeldbeleuchtung, bei der die Milchsaftkügelchen mit einem Schlage, vom schiefen Licht grell beleuchtet, auf relativ dunklem Untergrund hervortreten. Es genügt übrigens eine 50malige Vergrößerung bei senkrechter Beleuchtung[2]).

Die Größe der Stärkekörner ist, wie schon bemerkt, bei den verschiedenen Pflanzen sehr verschieden. Die kleinsten, z. B. bei den Zerealien vorkommenden, messen etwa 2—15 μ im Durchmesser, mittlere 20—50 μ. Zu den größten gehören neben den uns von der Scheinknolle von Phajus her bekannten die 210—275 μ langen und 60—159 μ breiten Stärkekörner, die man in den Schuppen des unterirdischen Sprosses von Lathraea squamaria beobachten kann[3]).

Nach dieser Orientierung über Gestalt, Bau und Größe der Stärkekörner wollen wir einige Reagentien auf sie einwirken lassen und den Erfolg der Wirkung direkt unter dem Mikroskop stu-

[1]) Vgl. M. v. SMOLUCHOWSKI, Ann. d. Physik, 4. Folge, Bd. CCXI, 1906, S. 756, und H. MOLISCH, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXIV, 1907, S. 97. Dort auch die übrige Literatur.

[2]) H. MOLISCH, Sitzber. d. K. K. Akad. d. Wiss. Wien, Math.-Nat. Kl., Bd. CXVI, 3. Heft, 1907, Abt. I, S. 467 ff.

[3]) J. WIESNER, Die Rohstoffe des Pflanzenreiches, 3. Aufl., Bd. II, Leipzig 1918, S. 6; B. EICHLER, Die größten Stärkekörner. Wszechswiat, 1904, S. 362.

dieren. Wir nehmen zunächst ein Kartoffelstärkepräparat aus der feuchten Kammer wieder vor. Nach erfolgter Einstellung bringen wir einen Tropfen Jodlösung (Jodwasser oder Jodalkohol [Jodtinktur] oder Jodjodkalium) an den Rand des Deckglases. Besonders empfiehlt sich hier die Anwendung einer Jodjodkaliumlösung, die aus 0,5 g Jodkalium und 1 g Jod in wenig Wasser dargestellt, dann auf 100 ccm mit Wasser verdünnt und über dem ausgeschiedenen Jod stehen gelassen wurde[1]). Man muß bei Zusatz der Reagentien ganz besonders darauf achten, daß der Tropfen nicht auf das Deckglas und von diesem etwa an das Objektiv gelange. Wo ein Tropfen auf das Deckglas kam, lasse man ihn sofort durch Fließpapier aufsaugen. Gelangte das Reagens an das Objektiv, so tauche man dieses mit der unteren Linse in reines

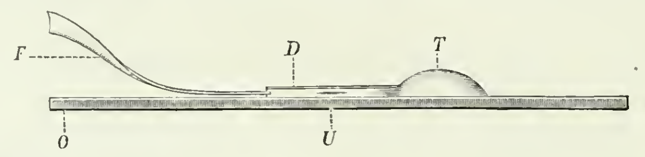


Fig. 71. Wechsel der Untersuchungsflüssigkeit unter dem Deckgläschen *D* mittels eines Fließpapier-Streifens *F*. *O* Objektträger, *U* Untersuchungsobjekt in der Flüssigkeit, die durch den Tropfen *T* ersetzt werden soll. Schematische Profilansicht.

Wasser ein und reinige es dann mit Krepp-Papier oder einem Leinwandläppchen.

Um die Einwirkung der Jodlösung direkt zu beobachten, warte man auf ihr Vordringen bis zu einer bestimmten Stelle des Präparats; diese Stelle wähle man aber nicht zu fern von demjenigen Deckglasrand aus, an welchem man das Reagens zusetzte, und folge dann durch Verschiebung des Objektträgers dem weiteren Fortschreiten der Einwirkung. Man sieht, sobald der Einfluß der Jodlösung sich geltend zu machen beginnt, die Stärkekörner sich zunächst hellblau, dann rasch immer dunkler, zuletzt schwarzblau färben. Im ersten Augenblick der Wirkung tritt die Schichtung wohl noch deutlicher hervor, um aber in den undurchsichtig werdenden Körnern bald völlig zu verschwinden. Mit Jodjodkaliumlösung steigert sich, falls man sie in größerer Menge zugesetzt hat, die Wirkung ziemlich schnell bis zur dunkelbraunen Färbung der Körner. Ähnlich werden trockene Stärkekörner, die man Joddämpfen aussetzt, tief dunkelbraun. Läßt man Wasser zu einem solchen Präparat hinzutreten, so geht das Braun rasch in Blau über. Dringt ein Reagens, das man am Deckglasrand zusetzte, nicht rasch genug in dem Präparat vor, so läßt sich eine Beschleunigung der Einwirkung leicht dadurch erzielen, daß man Stückchen von Fließpapier an dem entgegengesetzten Rand des Deckglases in der Weise anbringt, wie es aus der Figur 71 ersichtlich ist. Die schönste, veilchenblaue Färbung der Stärkekörner erreicht man, wenn man Jodsplitter in den Beobachtungstropfen zwischen die Stärkekörner streut. Diese Färbung stellt sich alsbald im Umkreis der Splitter ein.

Will man die Färbung der Stärkekörner mit Jod, die mit der Zeit verschwindet, länger erhalten, so breitet man die Stärkekörner auf

[1]) A. Meyer, Untersuchungen über die Stärkekörner, Jena 1895, S. 82.

dem Objektträger oder dem Deckglas mit Aq. dest. oder Jodjodkali-Lösung in dünner Schicht aus, läßt sie an der Luft oder bei gelinder Wärme eintrocknen und bettet nun in Jodparaffinöl bzw. Paraffinöl ein[1]). Das Jodparaffinöl stellt man sich durch Auflösung von 1 T. Jod in 100 T. neutralen, farblosen Paraffinöls her. Den Abschluß des Deckglasrandes vollziehe man mit 10-proz. Gelatine[2]).

Um Stärke in trockenen Pflanzenteilen, wie Drogen, nachzuweisen, legt man die Schnitte in Jodmilchsäure[3]). Diese erhält man durch Auflösen einiger Jodkristalle in weißer, sirupdicker Milchsäure. Die Gewebe nehmen darin ihre ursprüngliche Form wieder an und werden gleichzeitig aufgehellt. (Über Stärke-Nachweis in pflanzl. Geweben vgl. auch den XV. und XVII. Absch.)

Weiterhin empfiehlt es sich, die Quellungserscheinungen an den Stärkekörnern bei Einwirkung der Kalilauge (Kaliumhydroxyd) zu studieren. Zunächst stellen wir wieder ein Präparat von Kartoffelstärke ein, setzen dann am Rand des Deckglases das Reagens hinzu und warten dessen Einwirkung ab. Diese muß ganz langsam vor sich gehen, damit sie belehrend sei. Im ersten Augenblick der Einwirkung sehen wir die Schichtung deutlicher hervortreten, dann aber rasch schwinden, wobei das Korn an Größe stark zunimmt. Während dieses Vorgangs, der sich mit größerer oder geringerer Regelmäßigkeit vollzieht, höhlt sich der Bildungskern des Stärkekorns bedeutend aus, worauf die so entstandene Blase von der schwächeren Seite, somit von dem vorderen Ende des Korns her, sich einfaltet. Weiterhin verliert sich die Regelmäßigkeit der Erscheinung vollständig, und das Korn wächst zu einer glashellen Masse von bedeutendem Volumen an, deren Grenzen sich schließlich kaum noch unterscheiden lassen.

Instruktiver noch ist die Quellung der Bohnenstärke in Kalilauge. Die Schichtung bleibt weit länger bei der Quellung erhalten, während der innere Hohlraum des Korns wächst. So ist dann hier leicht festzustellen, daß die Schichten des Korns zunächst nur tangential an Ausdehnung gewinnen, in radialer Richtung nicht quellen; erst wenn die Schichtung schwindet, tritt Volumzunahme nach allen Richtungen ein. Hat die innere Höhle eine bestimmte Größe erreicht, so faltet sich die Wandung von einer oder von mehreren Seiten her in die Höhlung ein, und diese schwindet allmählich. Bei Beginn der Quellung wird die Schichtung sehr deutlich, und gleichzeitig ist, bei hinreichend starker Vergrößerung, eine radiale Struktur festzustellen, so daß die Lamellen wie aus radial gestellten Stäbchen aufgebaut erscheinen. Noch mehr von der radialen Struktur zeigen bei der Quellung in Kalilauge die großen Stärkekörner von Phajus grandifolius, nur muß, wie schon hervorgehoben wurde, das Reagens ganz allmählich zur Einwirkung gelangen.

Man kann auch den Versuch machen, durch Erwärmen des Präparats die Stärke zum Quellen zu bringen, ein Verfahren, wie es ja bei der Herstellung von Kleister zur Anwendung kommt. Man erwärme

---

[1]) Vgl. C. O. Harz, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXI, 1904, S. 25; s. a. dies. Abschn. S. 112, 113.

[2]) Über den Abschluß von Präparaten siehe im übrigen S. 124 ff.

[3]) G. Lagerheim, Svensk Farmaceut. Tidskr. (utg. af Th. Ekecrantz), Arg. V, Stockholm 1901.

das Präparat über einer Flamme, doch ohne es zum Aufkochen zu bringen, und sorge dafür, daß das verdunstende Wasser durch neues ersetzt wird. Ist beim Erwärmen die Temperatur bis auf etwa 70° C gestiegen, so wird man die Körner ganz ebenso, wie nach Kalilauge-Behandlung, verquollen finden. Um genau die Temperatur zu bestimmen, bei der die Quellung der Stärkekörner erfolgt, müßte man das Präparat auf einem heizbaren Objekttisch (vgl. dazu S. 32 ff.) erwärmen. Unter Umständen könnte man sich dadurch helfen, daß man kleinste Stückchen fester Körper, die bei einer bestimmten Temperatur verflüssigt werden, etwa Paraffinstückchen von bekanntem Schmelzpunkt, neben das Präparat auf den Objektträger legt.

In Präparaten, die mit Chromsäure fixiert wurden, zeigt sich die Stärke so verändert, daß bei ihr nicht nur die Jodreaktion, sondern auch die Quellungsmittel versagen[1]).

Die Stärkekörner können bestimmte Farbstoffe in sich aufnehmen, sind somit tinktionsfähig. Davon können wir uns leicht überzeugen, wenn wir Kartoffelstärke in eine dunkel gefärbte, wässr. Lösung von Methylviolett legen. Bringt man die intensiv gefärbten Körner in eine ganz verdünnte Lösung von Kalziumnitrat, so schlägt sich das Methylviolett vorzüglich in den weniger dichten, schwächer lichtbrechenden Schichten nieder[2]). Wenn man trockene Stärkekörner in 5-proz. Silbernitratlösung eintaucht, so daß sie von ihr durchtränkt werden, dann oberflächlich abtrocknet, in 0,75-proz. Kochsalzlösung bringt und endlich das Chlorsilber durch Besonnung reduzieren läßt, so wird auch ein Niederschlag von körnigem Silber oder eine homogene Graufärbung in den weniger dichten Schichten erreicht[3]). Die ausgetrockneten Körner kann man hierauf mit einem Tropfen Kanadabalsam bedecken, ein Deckglas auflegen und so ein Dauerpräparat von ihnen herstellen. — Diese Versilberungsmethode läßt sich, in Verbindung mit der Färbung durch Jodlösungen, dazu verwenden, eine haltbare Stärketinktion zu erlangen[4]). Das stärkehaltige Material, das seine Färbung behalten soll, wird zunächst entweder mit Alkohol getötet und, falls Chlorophyll vorhanden ist, so lange im Alkohol belassen, bis es die grüne Färbung eingebüßt hat, oder es wird mit Eau de Javelle behandelt, das die Eigenschaft hat, die plasmatischen Zellbestandteile schnell zu zerstören, während die Stärkekörner lange unversehrt bleiben[5]). Man überträgt das Material dann in Wasser, wäscht es aus und bringt es, noch feucht, in einen Tropfen einer Jodlösung (Wasser 15 g, Jodkalium 1,5 g, Jod 0,05 g), bis die Stärkekörner dunkelblau erscheinen. Nachdem das Präparat so lange mit Aq. dest. gewaschen wurde, bis die Jodfärbung aus den Zellhäuten und dem Plasma verschwunden ist, fügt man einige Tropfen einer Silbernitratlösung hinzu, läßt das Präparat einige Zeit hell stehen, bis es durch das in den Stärkekörnern niedergeschlagene Jodsilber weiß oder weißgelb geworden ist. Dann wird das Jodsilber durch einen Hydrochinonentwickler (Aq. dest. 100 g, Natriumsulfit 10 g, Hydrochinon 2 g) reduziert, indem man das mit Aq. dest. gut ausgewaschene Jodsilberpräparat in eine Mischung von 1 ccm des Entwicklers mit einem Tropfen 10-proz.

[1]) C. O. Harz, Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. XIX, 1906, I. Abt., S. 45.
[2]) A. Meyer, l. c., 1895, S. 120.
[3]) C. Correns, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXIII, 1892, S. 294.
[4]) G. Lagerheim, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XIV, 1897, S. 350.
[5]) E. Heinricher, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd III, 1886, S. 213.

Kaliumkarbonatlösung überführt, wo es sich nach und nach bräunt. Wenn es rotbraun geworden ist, wäscht man es in Wasser aus und bringt es in Glyzerin. In gut gelungenen Präparaten müssen die Stärkekörner ihre Gestalt und Struktur behalten haben und gelbbraun gefärbt sein. — Eine haltbare, rotbraune Färbung der Stärke kann man u. a. dadurch erzielen, daß man die durch Jodjodkalium gefärbten, mit Wasser ausgewaschenen Präparate mit einer Lösung von Palladiumchlorür ($PdCl_2$ 0,2 g, Wasser 20 g) behandelt und nach einigen Min. mit Wasser auswäscht. Das eingelagerte Palladiumjodid bringt die braune Färbung hervor. Auch durch starkes Überfärben mit Jod und Einschließen in Kanadabalsam läßt sich eine haltbare rotbraune Jodfärbung der Stärkekörner erreichen. Man läßt einen großen Tropfen alkohol. Jodlösung auf dem Stärke-Präparat eintrocknen und schließt es dann in dickflüssigen Kanadabalsam ein. Der Überschuß an Jod wird vom Kanadabalsam aufgelöst und das Präparat erscheint nach wenigen Tagen vollständig klar. Es empfiehlt sich, die Präparate vor der Jodbehandlung für 24 Std. in stark verdünnte wässr. Malachitlösung zu bringen. Es heben sich dann die rotbraunen Stärkekörner vom grünen Zellnetz ganz ausgezeichnet ab[1]). Schließlich läßt sich zur Erzielung einer haltbaren Stärkefärbung eine mit Hilfe des modifizierten Rawitzschen Tannin-Brechweinstein-Verfahrens (s. Reg. IV und XVII. Abschn.) durchgeführte, inverse Tinktionsmethode benutzen[2]). — Um die Schichtung der Stärkekörner besonders deutlich zu machen, kann man auch Farbstoffniederschläge in den wasserreicheren Schichten dadurch hervorrufen, daß man die mit wässr. Farblösung durchtränkten Körner mit sehr verdünnter Kalziumnitratlösung[3]) oder konz. wässr. Pikrinsäure übergießt[4]). Mit Fuchsin, Gentianaviolett, Malachitgrün oder Thionin behandelte Körner werden nach Austrocknung in Kanadabalsam eingeschlossen. Man gewinnt so Dauerpräparate von großer Haltbarkeit. Glycerin-Gelatine eignet sich als Einschlußmittel nicht, da sich die Farbstoffniederschläge in ihr nach einiger Zeit auflösen. — Wenn man auf die an Amylodextrin reichen Stärkekörner der Klebhirse (Sorghum vulgare glutinosum) Diastaselösung (1 T. Malz mit 3 T. Wasser ausgezogen und filtriert, dazu etwas Chloroform zum Abhalten der Bakterien) einwirken läßt, tritt in den Schichten des Stärkekorns deutlich eine radiale Struktur hervor. Eine entsprechende Struktur ist an Kartoffelstärkekörnern zu erkennen, wenn man diese eine Zeitlang mit verdünnten Säuren behandelt und hierauf in Wasser quellen läßt[5]).

Die Stärkekörner werden in diastasehaltigen Lösungen korrodiert, d. h. es bilden sich in ihnen, von außen nach innen fortschreitend, Kanäle, die das Korn mit der Zeit derart zerklüften, daß es in kleine Bruchstücke auseinanderfällt. Sehr leicht kann man sich von dieser Wirksamkeit der Diastase überzeugen, wenn man 3 g lufttrockener Weizenstärke in einem Uhrglas mit 3 ccm konz. Malzextrakt übergießt. Dann deckt man das Uhrglas zu, bringt von Zeit zu Zeit einen Tropfen der Flüssigkeit auf den Objektträger unter das Mikroskop, wobei man die Veränderungen leicht wahrnehmen kann. Die einzelnen Körner verhalten sich unter der

1) H. Fischer, Beih. z. Bot. Zentralbl., Bd. XII, 1902, S. 236.
2) B. Němec, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXIV, 1906, S. 528.
3) A. Meyer, l. c., 1895, S. 120.
4) Vgl. H. Fischer, Cohns Beitr. z. Biol. d. Pfl., Bd. VIII, I. H., 1898, S. 81. 82
5) A. Meyer, l. c., 1895, S. 122.

Fermenteinwirkung sehr verschieden. Statt des Malzextrakts kann man mit demselben Erfolg die Stärke auch mit der gleichen Menge einer wässr. Lösung des durch Alkohol gefällten Ferments übergießen. Dieser Flüssigkeit setzt man zweckmäßig eine sehr kleine Zitronen- oder andere Säuremenge hinzu, wodurch die Wirksamkeit der Diastase noch erhöht wird[1]. Energischer als Diastase wirkt Ptyalin, ein im menschlichen Speichel enthaltenes Enzym, auf Stärke ein, wie man mikroskopisch an einer Stärkeprobe leicht feststellen kann, die man einige Stunden in Speichel hat liegen lassen[2]. Eine Korrosion der Stärke findet auch in keimenden stärkehaltigen Samen statt[3], und zwar ebenfalls durch Einwirkung von hier besonders reichlich auftretenden diastatischen Fermenten. Auch kann durch verschiedene Fadenpilze und Bakterien die Korrosion der Stärkekörner bewirkt werden[4]. In Wasser von 46° C lassen sich die Stärkekörner in 8—10 Tagen ohne Korrosion lösen; bei 100—110° C erfolgt die Lösung schon in einer Stunde, liefert dabei Körper, die sich durch ihr Lichtbrechungsvermögen von der Stärke unterscheiden[5].

Steht dem Beobachter der in der Einleitung (S. 30) empfohlene oder ein anderer, für das Mikroskop eingerichteter Polarisationsapparat zur Verfügung, so verlasse er das Studium der Stärkekörner nicht, ohne deren Verhalten im polarisierten Licht kennengelernt zu haben[6]. Von den in der Einleitung bereits angeführten Apparaten wird der Polarisator, ein Nicolsches Prisma mit Kondensorlinse, in die Zylinderblende des kleinen Stativs oder in den Diaphragmenträger des Beleuchtungsapparats am größeren Stativ eingefügt, das als Analysator dienende Nicolsche Prisma, gewöhnlich in der als Prazmowskisches Prisma bezeichneten Konstruktion, dem gewöhnlichen Okular aufgesetzt. Falls ein drehbarer Objekttisch nicht vorhanden ist, muß eine Scheibe mit drehbarem Ring mittels eines in die mittlere Öffnung passenden Ansatzes auf dem Objekttisch des Mikroskops befestigt werden. Auf den drehbaren Objekttisch bzw. diese Scheibe kommt alsdann das Objekt zu liegen und kann, dem Bedürfnis entsprechend, um die Achse des Mikroskops gedreht und so in verschiedenen Lagen zu den in unveränderter Stellung verharrenden Prismen gebracht werden. Die Lage der Polarisationsebene pflegt bei den Nicolschen Prismen des Apparats am Rand der Fassung durch eine Marke bezeichnet zu sein. Man kann diese Lage auch sonst leicht feststellen, wenn man beachtet, daß sie senkrecht zu dem kürzeren Durchmesser des Prismenquerschnitts orientiert ist. — Wollen wir nun die Wirkungsweise der beiden Prismen kennenlernen, so verfahren wir folgendermaßen: Zunächst sorgen wir durch Stellen des Mikroskop-Spiegels für gute Beleuchtung. Dann beginnen wir langsam den Analysator um seine Achse zu drehen. Dabei wird uns ein periodischer Wechsel von hell und dunkel auffallen, und zwar tritt während einer einmaligen vollständigen Drehung des Analysators, die am Teilkreis zu kontrollieren ist, zweimal Helligkeit und

[1] W. Detmer, Das pflanzenphysiologische Praktikum, 4. Aufl., Jena 1912, S. 178.

[2] A. Meyer, Erstes mikrosk. Praktikum, 3. Aufl., 1915, S. 28.

[3] Vgl. bei Triticum im Abschnitt XXX.

[4] F. F. Billings, Flora, Bd. LXXXVII, 1900, S. 288ff.

[5] C. Tanret, Bull. soc. chim. France, 4. sér., T. V—VI, 1911, S. 653.

[6] Eine eingehende Anleitung zur Benutzung des Polarisationsmikroskops bei histologischen Untersuchungen enthalten die entsprechend betitelten Werkchen von H. Ambronn, Leipzig 1892, und von E. Weinschenk, 4. Aufl., Freiburg i. Br. 1919.

zweimal Dunkelheit auf. Das. Sehfeld weist dann die größte Helligkeit auf, wenn die Polarisationsebenen beider Nikols zusammenfallen; bei Drehung des Analysators um 90° jedoch, wo die Polarisationsebenen in einem Winkel von 90° zueinander stehen (man spricht dann von gekreuzten Nikols), erscheint es am dunkelsten. Optisch isotrope, d. h. nicht doppelbrechende Objekte erscheinen im hellen Sehfeld hell, im dunkeln verschwinden sie; optisch anisotrope, d. h. doppelbrechende Objekte leuchten im letzteren auf, im hellen Gesichtsfeld erscheinen sie dunkel bzw. farbig. Die Einstellung des Objekts wird bei derjenigen Lage des Analysators vorgenommen, in der das Gesichtsfeld hell erscheint, die Polarisationsebenen vom Polarisator und Analysator somit parallel zueinander stehen. Hierauf wird der Analysator gedreht, bis das Gesichtsfeld schwarz erscheint, die Polarisationsebenen sich also kreuzen. Die Stärkekörner zeigen ein schwarzes Polarisationskreuz, sie sind somit doppelbrechend oder optisch anisotrop. Die Arme des Kreuzes fallen mit den Schwingungsrichtungen der beiden Nikols zusammen. Die dazwischen liegenden Quadranten sind hell. Bei der Kartoffelstärke mit exzentrischem Kern hat der Mittelpunkt des Kreuzes eine entsprechende exzentrische Lage. Ersetzen wir das Präparat der Kartoffelstärke durch ein solches der Weizen- oder Bohnenstärke, so erhalten wir, da hier der Kern zentral ist, auch ein schönes, gleichmäßig entwickeltes Kreuz, mit zentralem Mittelpunkt. — Gips- oder Glimmerplättchen (vgl. Einleitung S. 30), welche zwischen Analysator und Polarisator eingeschaltet werden, dienen dazu, durch Beobachtung der eintretenden Färbung des Objekts (Additions- bzw. Subtraktionsfarbe) die Richtung der optischen Elastizitätsachsen in den Objekten festzustellen. Um ihre Wirkung kennenzulernen, legen wir jetzt ein solches Plättchen unter dem Objektträger auf die Scheibe innerhalb des Ringes. Wir wählen hierzu ein solches, das die Interferenzfarbe Rot I. Ordnung gibt, das somit bei gekreuzter Stellung der Prismen das Gesichtsfeld rot, bei ihrer gleichen Stellung grün erscheinen läßt. Die richtige Lage des Plättchens haben wir noch vor Auflegen des Objektträgers, bei gekreuzten Prismen, durch Drehung dieses Plättchens gewonnen. Sie ist erreicht, wenn das Gesichtsfeld intensiv rot erscheint. Es trifft das dann ein, wenn die Schwingungsebenen der Prismen mit der des Gipsplättchens einen Winkel von 45° bilden. Während einer vollständigen Umdrehung des Analysators wird das Gesichtsfeld zweimal rot und zweimal hellgrün aufleuchten, dazwischen dunkel werden. Die zuvor farblosen Teile des Stärkekorns zwischen den Armen des Kreuzes erscheinen nach Einschaltung des Plättchens gefärbt, und zwar zwei gegenüberliegende Felder in gleicher Farbe, welche komplementär zu der Farbe der beiden anderen Felder ist. Das Kreuz erscheint in der Farbe des Gesichtsfeldes, es ist somit bei farbigem Gesichtsfeld entsprechend rot oder grün, die zwischenliegenden Teile des Korns abwechselnd in der Additionsfarbe blau, und in der Subtraktionsfarbe gelb, und zwar blau, was gelb bei hellgrünem Gesichtsfeld war, und umgekehrt. — Die Doppelbrechung der Stärkekörner wird meist als Stütze der kristallinischen Natur der Stärkekörner angesehen[1]). Die Stärkekörner wären demnach Sphärokristalle (Sphärite), aufgebaut aus radial gestellten, in zentrischen Schichten aufeinanderfolgenden Kristallnadeln, den Trichiten, eines Kolloids. Die Trichite dieser Sphärokristalle dürften nicht dem regulären System angehören, da

[1]) A. Meyer, l. c., 1895, S. 116.

die Sphärokristalle alsdann zwischen den gekreuzten Nikols vollständig dunkel bleiben müßten. Hingegen würden Sphärokristalle, deren Trichite dem quadratischen, hexagonalen und rhombischen System angehören, zwischen gekreuzten Nikols, wie Stärkekörner, ein orthogonales schwarzes Kreuz zeigen, dessen Arme mit den Schwingungsrichtungen der Nikols zusammenfallen. Sphärite mit Trichiten des monoklinen Systems würden sich freilich ebenso verhalten, doch nur dann, wenn ihre Trichite so ausgebildet wären, daß deren Längsachse mit der Symmetrieebene des monoklinen Systems zusammenfiele. In allen anderen Fällen müßten sie zwischen den Nikols ein Kreuz zeigen mit mehr oder weniger schräg zu den Schwingungsrichtungen der Nikols liegenden Armen. Sphärokristalle endlich, deren Trichite dem triklinen System angehören, müßten stets ein orthogonales Kreuz mit mehr oder weniger schräg zur Schwingungsrichtung der Nikols orientierten Armen liefern [1]. —

Hiermit hätten wir unsere erste Aufgabe durchgeführt. Wir stellen jetzt das Mikroskop beiseite, fassen aber dabei das Instrument nicht an dem die Mikrometerschraube enthaltenden oberen Teil der Säule, sondern an deren unterem Teil, der an den neueren Instrumenten zu einem besonderen, dazu bestimmten Handgriff umgestaltet ist. Vorher reinigen wir in der schon angegebenen Weise sorgfältig die benutzten Objektive und Okulare. Falls unser Stativ nicht mit Zahn und Trieb, sondern mit federnder Hülse versehen ist, ziehen wir auch den Tubus aus dieser, um ihn und auch das Innere der Hülse mit einem gröberen Tuch abzureiben, das zweckmäßig mit Benzin befeuchtet ist. Wir schieben nunmehr das Mikroskop in sein Schränkchen zurück oder stellen es unter eine Glasglocke, die eventuell noch, um das Instrument möglichst vor Staub zu schützen, an dem unteren Rand mit Filz eingefaßt sein könnte. Zum gleichen Zweck können wir auch eine einfache Papptrommel benutzen. — Von Zeit zu Zeit wird es nötig, Schrauben und Gewinde des Mikroskops vorsichtig einzuölen, wozu nur säurefreies Öl, z. B. Paraffinöl, am besten jedoch weiße amerikanische Vaseline, wie sie in jeder Apotheke erhältlich ist, benutzt werden darf. Dem Einölen muß dann eine Reinigung mit Benzin vorausgehen.

[1]) A. MEYER, ebenda, S. 109.

II. Abschnitt.

Klebermehl. Fettes Öl. Eiweisskristalle. Herstellung von Dauerpräparaten.

Verschiedene Einschlußmedien. Wiederfinden bestimmter Stellen im Präparat. Objektmarkierer.

Untersuchungsmaterial.

Erbsen. Weizenkörner. Samen der weißen oder einer anderen Lupine. Rizinussamen. Paranüsse.

Wichtigste Untersuchungsflüssigkeiten, Reagentien, Farbstoffe, Einschlußmedien.

Glyzerin. — Olivenöl. — Absoluter Alkohol. — Jodglyzerin. — Eisessig. — Millonsches Reagens. — 1-proz. Osmiumsäure. — Gesättigte Pikrinsäurelösung in absolutem Alkohol. — Borax-Karmin. — Wässrige Methylgrünlösung. — Methylgrün-Fuchsinlösung. — Alkanna-Tinktur. — Eosin. — Glyzerin-Gelatine. — Kristall-Palast-Lack oder ein anderes Kittmittel oder Gummi arabicum.

Wir untersuchen zunächst die Erbse (Pisum sativum). Ein reifer Samen wird mit einem starken Taschenmesser so halbiert, daß seine beiden Kotyledonen sich quer durchschnitten zeigen. Hierauf führen wir an der Halbierungsfläche feine Querschnitte mit einem scharfen, hohlgeschliffenen Rasiermesser aus. Über das Schneiden mit dem Rasiermesser sei folgendes bemerkt: 1. Die Schnittfläche ist vor dem Schneiden zu befeuchten, und zwar für gewöhnlich mit Wasser, im vorliegenden Fall indessen mit Glyzerin, da das Präparat durch Wasser leidet, und wir es in Glyzerin untersuchen wollen. 2. Der oberste Schnitt ist nicht zu brauchen, da hier das Gewebe durch das Taschenmesser zu stark beschädigt wurde. 3. Man darf aus so resistentem Gewebe, wie es das der Erbse ist, mit dem Rasiermesser nur sehr kleine und äußerst dünne Schnitte herstellen, da die Schneide sonst leicht schartig wird. Ist man mit der Schneide zu tief in das Gewebe geraten und merkt, daß der Widerstand wächst, so ziehe man das Rasiermesser zurück, anstatt den Schnitt zu Ende führen zu wollen. 4. Man beginne, falls es die Untersuchung nicht etwa anders fordert, den Schnitt nicht mit dem Rand des Objekts, lege vielmehr die Schneide der Schnittfläche auf; man gewinnt so einen viel sichereren Halt, um einen dünnen Schnitt auszuführen. 5. Um einen wirklich guten, d. h. einen solchen Schnitt zu erhalten, in welchem die einzelnen Gewebselemente durch das Messer nicht zerrissen werden, muß die Schneide nicht einfach gegen die Schnittkante gedrückt,

vielmehr an dieser zugleich hingezogen werden. Daher gewöhne man sich, womöglich frei zu schneiden, und vermeide es, die schneidende Hand mit dem Daumen auf die andere Hand zu stützen (vgl. Fig. 72). Beim Schneiden lege man die untere Fläche der Messerklinge auf den Zeigefinger der den Gegenstand haltenden Hand. 6. Da es schwer wird, einen so kleinen Gegenstand, wie die halbe Erbse, namentlich auch, wenn er so hart wie diese ist, hinlänglich fest zwischen den Fingern zu halten, so bediene man sich hierzu des kleinen, in der Einleitung (S. 43) erwähnten Handschraubstocks. Die halbe Erbse wäre somit in diesen entsprechend tief einzuspannen.

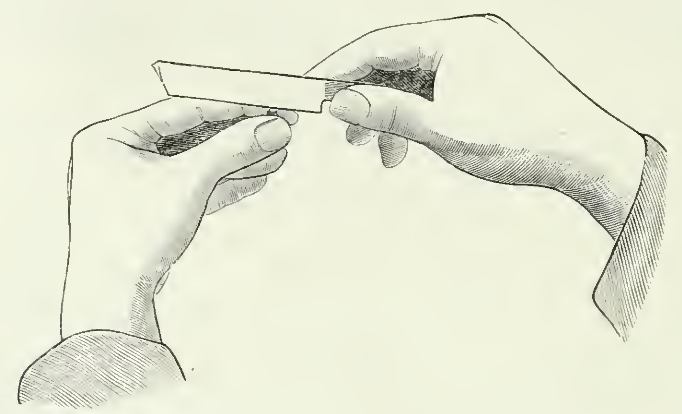


Fig. 72. Haltung der Hände bei Herstellung eines Rasiermesserschnittes[1]).

7. Man begnüge sich nicht mit einem einzigen Schnitt, führe vielmehr stets eine größere Anzahl aus, um die besten dann für die Untersuchung auswählen zu können.

Das benutzte Rasiermesser muß von Zeit zu Zeit auf einem Streichriemen abgezogen werden. Streichriemen mit fester Unterlage sind entschieden den frei ausgespannten vorzuziehen. Wir können die sogenannten chinesischen Streichriemen Nr. 2 von *G. Zimmer*-Berlin (Preis 200 M) empfehlen. Die Gebrauchsanweisung ist dem Futteral aufgedruckt. Das Schleifen der Messer auf Stein wird man bei einem Instrumentenmacher am besten erlernen (vgl. auch S. 56).

Der ausgeführte Schnitt soll zunächst in konzentriertem oder mit etwa $^1/_3$ Aq. dest. verdünntem Glyzerin untersucht werden, da reines Wasser alsbald Desorganisations-Erscheinungen im Zellinhalt dieses und auch anderer ähnlicher Objekte veranlaßt[2]). Die Übertragung der Schnitte von dem Messer auf den Objektträger erfolgt am besten mit einem feinen Pinsel. Man drückt den Pinsel auf den Schnitt und schiebt ihn von der Klinge herunter. Haftet der Schnitt einer hinreichend breiten Fläche des Pinsels an, so wird auch sein Zusammenrollen vermieden; dieses erfolgt hingegen leicht, wenn man den Schnitt

[1]) Nach M. Möbius, Bot.-Mikrosk., Praktikum, 3. Aufl., Berlin 1919, S. 31, verkleinert und etwas verändert.

[2]) So lösen sich manche Aleuronkörner in Wasser sehr leicht, andere allerdings auch in Glyzerin (vgl. Reg. IV Aleuron).

am Rand mit der Pinzette faßt und ihn in solcher Weise übertragen will. Der am Pinsel haftende Schnitt wird flach in den Tropfen des Objektträgers eingetaucht und der Pinsel nun unter gleichzeitiger Drehung seitlich entfernt. Will man den auf dem Objektträger befindlichen Schnitt umkehren, so drückt man den Pinsel derart gegen den Objektträger, daß er mit dem Rand den Schnitt berührt, und beginnt ihn nun von dem Schnitt hinwegzudrehen. Hierbei wird der Schnitt sehr leicht auf die Oberfläche des Pinsels gezogen und kann nun mit diesem zugleich umgekehrt werden. Andere, ähnliche Kunstgriffe ergeben sich bald durch Übung; der Pinsel muß aber nach jeder Benutzung in Wasser gereinigt werden.

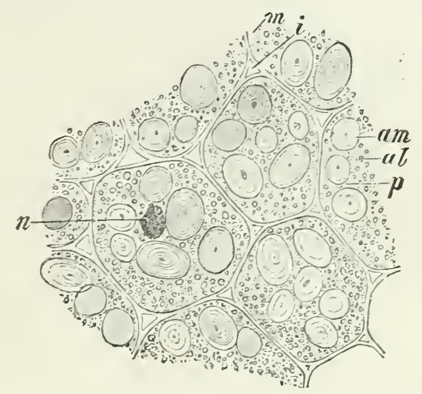


Fig. 73. Aus den Keimblättern der Erbse. *m* Zellhaut, *i* Interzellularraum, *am* Stärke, *al* Aleuronkörner, *p* Grundsubstanz, *n* Zellkern, letzterer nach der Methylgrün-Reaktion ergänzend eingetragen. Vergr. 240.

Wir stellen den Erbsenschnitt bei stärkerer Vergrößerung ein. Er zeigt uns ein aus runden Zellen bestehendes Gewebe (Fig. 73). An den Stellen, wo drei Zellen zusammenstoßen, ist ein dreieckiger, mit Luft erfüllter Interzellularraum (*i*) vorhanden. Die Luft erscheint schwarz, wie der Rand der früher besprochenen Luftblasen; hier muß sie natürlich die Gestalt des Raums zeigen, den sie ausfüllt. Die Wand der Zellen (*m*) ist ziemlich dick. In der Fig. 73 sind die drei mittleren Zellen vollständig, von den anschließenden Zellen nur Teile dargestellt. In jeder Zelle sieht man die großen Stärkekörner (*am*) und bei einiger Aufmerksamkeit auch kleine, zwischen ihnen liegende Körnchen (*al*). Diese kleinen Körnchen sind ihrerseits in einer äußerst feinkörnigen Substanz (*p*) eingebettet. An dünnen Stellen des Schnittes ist manches Stärkekorn herausgefallen; ein entsprechend gestalteter Hohlraum in der körnigen Masse bezeichnet dessen Stelle. Die kleinen Körner sind Klebermehl-, Aleuron- oder Proteïnkörner; sie liegen in der aus Zytoplasma bestehenden Grundsubstanz. Fügen wir Jodlösung hinzu, am besten Jodglyzerin, so werden die eintretenden Färbungen uns alsbald über die einzelnen Bestandteile der Zellen belehren. Wir bringen den Tropfen Jodlösung auch jetzt an den Deckglasrand; da aber die Jodlösung sehr langsam in das Glyzerin diffundiert, es uns außerdem hier nicht darauf ankommt, das Fortschreiten der Reaktion zu studieren, so beschleunigen wir diese, indem wir das Deckglas ein wenig mit der Nadel heben und so die Vermischung der Jodlösung mit dem Glyzerin erleichtern. Eine zweite, gegen den entgegengesetzten Rand des Deckglases gleichzeitig gestemmte Nadel verhindert sein Fortgleiten. Die Stärkekörner färben sich blau ins Violette, die Aleuronkörner und die Grundsubstanz gelb. Werden Erbsenschnitte in einen Tropfen Boraxkarmin gelegt, so erscheint in äußerst kurzer Zeit die Grundsubstanz, alsbald auch das Aleuron, dunkelrot gefärbt; die Stärkekörner bleiben farblos.

Besonders auffallend wird die Reaktion, wenn man nach vollzogener Färbung die Karminlösung durch verdünntes Glyzerin oder durch Wasser ersetzt. Man verfährt folgendermaßen: Man läßt die Karminlösung an dem einen Deckglasrand durch Fließpapier aufsaugen und führt gleichzeitig am entgegengesetzten Rand Wasser oder verdünntes Glyzerin dem Präparat zu (vgl. Fig. 71, S. 110). Trägt man einen Schnitt in frisch bereitetes salpetersaures Quecksilberoxydul, MILLONsches Reagens[1]), ein, so quellen die Stärkekörner sehr stark und werden unkenntlich; Aleuron und Grundsubstanz sind alsbald desorganisiert, die desorganisierte Masse nimmt aber nach kurzer Zeit eine charakteristische ziegelrote Färbung an. — Legen wir einen Schnitt in wässrige Methylgrünlösung[2]), so tritt uns nach kurzer Zeit in jeder Zelle zwischen den übrigen Bestandteilen ein grünblauer Fleck von ziemlich unregelmäßigem Umriß entgegen. Dieser Fleck ist der Kern der Zelle (*n*). Die übrigen Bestandteile der Zelle haben sich nicht gefärbt; nur sind die Stärkekörner ein wenig gequollen (sie zeigen die radialen Spalten, die unter Glyzerin fehlen); auch die Aleuronkörner haben an Größe zugenommen und erscheinen wie porös oder auch hohl. Wir erkennen somit in der Methylgrünlösung ein Reagens, das sich als geeignetes Kerntinktionsmittel empfiehlt. Gleichzeitig gefärbt haben sich freilich auch die Zellwände; doch tut dies dem Wert dieses Farbstoffes als charakteristischen Kernfärbungsmittels keinen Abbruch. Die Zellwände zeigen schöne, hellblaue Farbe und sind infolgedessen jetzt viel besser als zuvor in den Glyzerinpräparaten zu verfolgen. Auch die Interzellularräume treten entsprechend schärfer hervor. Noch schöner wird das Bild, wenn wir zu einer wässrigen Methylgrünlösung etwas Fuchsin hinzufügen, so viel, daß die zuvor blaue Lösung deutlich violett wird, und nun mit dieser Lösung unsere Erbsenschnitte behandeln. Da färben sich, wie zuvor, die Zellkerne und die Zellwände schön blau, die Aleuronkörner und die Grundsubstanz intensiv rot. Hat man einen kleinen Tropfen dieser Doppelfarblösung zuvor mit einem größeren Tropfen Glyzerin auf dem Objektträger vermischt und nun erst die Erbsenschnitte hineingelegt, so erfolgen die nämlichen Färbungen wie in der wässrigen Lösung, doch wesentlich schwächer: dafür hat man aber die Aleuronkörner unversehrt vor Augen.

So haben wir denn in der gelbbraunen Jodreaktion, der Aufspeicherung von Farbstoffen, der ziegelroten MILLONschen Reaktion bestimmte Hilfsmittel kennengelernt, um Eiweißstoffe, insbesondere Proteinstoffe bzw. Globuline, — denn aus diesen bestehen die Aleuronkörner und der Hauptsache nach auch das Protoplasma[3]), — unter dem Mikroskop zu erkennen. Die MILLONsche Reaktion pflegt sich in den meisten für solche Untersuchungen in Betracht kommenden Fällen einzustellen, wobei jedoch hervorzuheben ist, daß sie ihr Zustandekommen nicht den Eiweißkörpern als solchen, sondern wahrscheinlich eigenartigen Spaltungsprodukten derselben verdankt. Wie

[1]) Über seine Herstellung vgl. Reg. IV.

[2]) Das neuerdings für diesen Zweck empfohlene Indigokarmin (s. Reg. IV) steht in seiner Wirkung gegenüber dem Methylgrün zurück.

[3]) Vgl. jedoch A. MEYER, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXIII, 1915, S. 373 und Derselbe, Morphologische und physiologische Analyse der Zelle der Pflanzen und Tiere. I. Teil, Jena 1920.

mit der MILLONschen Reaktion, verhält es sich mit der nicht minder häufig auf Eiweißstoffe angewandten Xanthoproteïn-Reaktion, der Gelbfärbung, die sich bei Behandlung der Proteïnstoffe mit konzentrierter Salpetersäure einstellt. Durch geringes Erwärmen wird diese Reaktion beschleunigt, durch Zusatz von Kalilauge oder Ammoniak gewinnt sie an Stärke. In Präparaten, die man in konzentrierte Zuckerlösung einlegt, und zu denen man hierauf konzentrierte Schwefelsäure zusetzt, tritt die sogenannte RASPAILsche Reaktion ein, eine weinrote, auch mehr oder weniger violette Färbung der Eiweißstoffe. Doch färbt konzentrierte Schwefelsäure auch schon für sich viele Glykoside und Alkaloide rot. Mit Kupfersulfat und Kalilauge ist eine violette Färbung der Eiweißstoffe zu erzielen, die aber oft undeutlich ist und unter Umständen trotz der Anwesenheit von Eiweißstoffen versagt. So sind denn stets mehrere Reaktionen auszuführen, bevor man sein Urteil fällt. Die Aufspeicherung der Farbstoffe gibt dann weitere wertvolle Anknüpfungspunkte für die Unterscheidung der einzelnen Bestandteile des Zellkörpers. Eine besonders starke Verwandtschaft zu gewissen Farbstoffen zeigt die Substanz des Zellkerns. Starke Aufspeicherungen der Farbstoffe im Protoplasma erfolgen aber erst, nachdem dieses getötet wurde, oder wenn es sich zum mindesten im inaktiven Zustand befindet. Demgemäß speichern die Aleuronkörner, die aus inaktiven, toten Eiweißkörpern (vornehmlich Globulinen[1]), bestehen, die Farbstoffe sofort auf, ebenso die durch Austrocknen in den Scheintod versetzten protoplasmatischen Bestandteile der Samen. Im aktiven Zustand werden die Bestandteile des Protoplasmas (Zytoplasma, Zellkern, Chromatophoren) hingegen, wenn überhaupt, nur schwach und nur von gewissen Farbstoffen tingiert[2]).

Als zweites Objekt der Untersuchung empfiehlt sich ein W e i z e n - k o r n. Wir wählen Triticum vulgare. Das Korn wird mit dem Taschenmesser zunächst quergeteilt; dann fertigt man mit dem Rasiermesser — unter Umständen mit Hilfe des Handschraubstockes — dünne Querschnitte an. Man muß darauf achten, daß die Schnitte auch die äußeren Hüllen, Frucht- und Samenschale, enthalten. Die Untersuchung wird in Glyzerin vorgenommen. Die Schnittfläche des Messers benetzt man vor dem Schneiden mit Glyzerin. Fig. 74 führt uns einen Querschnitt vor. Unter der aus zusammengedrückten und abgestorbenen Zellen gebildeten Haut, welche die Frucht- und Samenschale darstellt, liegt eine Schicht rechteckiger, dicht mit kleinen Aleuronkörnern (*al*) erfüllter Zellen, die zugleich fettes Öl enthält, weshalb ihre Zellen auch als Ölzellen bezeichnet wurden[3]). Die Aleuronkörner sind in einer feinkörnigen Grundsubstanz eingebettet. Dann schließen gestreckte, weniger regelmäßige Zellen an, welche große und kleine Stärkekörner enthalten.

Nach A. GUILLIERMOND[4]) enthalten die Aleuronkörner der Zerealien ebenso, wie u. a. die weiterhin zu schildernden Aleuronkörner von Rizinus, Globoide, deren Zahl und Größe je nach den Getreidearten und den Ge-

[1]) Nach A. GUILLIERMOND, Arch. d'anatomie microsc., Bd. X, 1908, S. 141 ff.: vgl. auch J. BEAUVERIE, Ann. d. sc. nat. Bot., 9. Sér., T. VIII, 1908, S. 173. Siehe ferner die Zusammenstellung bei FR. CZAPEK, Biochemie der Pflanzen, 2. Aufl. 1920, oder 3. Aufl. 1922, Bd. II, S. 232 ff.

[2]) Vgl. dazu auch den III. Abschn. und Reg. IV, Eiweißkörper-Reaktionen.

[3]) VON TSCHIRCH, s. P. LINDNER, Wochenschr. f. Brauerei, 1918, Nr. 37 ff.

[4]) l. c. 1908, ferner J. BEAUVERIE, l. c., 1908; dort auch die zugehörige Literatur.

weben, in denen sie sich befinden, schwankt. Neben mineralischen Bestandteilen sollen sie einen dem Volutin (vgl. Reg. IV) ähnlichen Stoff enthalten und als Reservematerial dienen.

Einen gut gelungenen Schnitt aus dem Weizenkorn wollen wir aufbewahren und bei dieser Gelegenheit lernen, wie ein Dauerpräparat herzustellen ist. Wir wollen das zunächst in möglichst einfacher Weise tun, was sich hier um so mehr empfiehlt, als unser Zweck dabei sehr gut erreicht wird: wir betten den Schnitt in Glyzerin-Gelatine ein. Zunächst bringen wir soviel von dieser gallertartigen Substanz auf einen Objektträger, als zur Bildung eines mäßig großen Tropfens notwendig ist. Hierauf erwärmen wir den Objektträger langsam über einer Flamme, bis die Gallerte sich verflüssigt hat. Wir werden leicht zu viel Glyzerin-Gelatine genommen haben, so daß der Tropfen zu groß gerät, und wir einen Teil davon mit Fließpapier absaugen müssen. Um gleich die richtige Menge zu treffen, empfiehlt es sich, Glyzerin-Gelatine, die man durch Erwärmen verflüssigte, auf einen Teller zu gießen und in dünner Schicht dort erstarren zu lassen. Man schneidet sie dann in kleine Würfelchen von ausprobierter, je einen flachen Tropfen bildender Größe. Diese Würfelchen löst man vom Teller ab und bewahrt sie in einem geschlossenen Gefäß staubfrei auf, um sie nach Bedarf zu verwenden. In den durch Erwärmen des Objektträgers gewonnenen Tropfen legen wir unser Präparat hinein und bedecken es mit einem Deckglas. Es empfiehlt sich, das Deckglas zuvor zu erwärmen, weil sonst leicht Luftblasen im Präparat zurückbleiben; auch ist aus gleichem Grunde das Deckglas nicht horizontal, sondern etwas geneigt mit einer leichten seitlichen Schwenkung aufzulegen. Werden trotzdem Luftblasen eingefangen, so erwärmt man den Objektträger ein wenig und sucht nun durch vorsichtiges, einseitiges Heben des Deckglases die Luftblasen zu beseitigen. Sind die Luftblasen nicht störend, so verzichtet man eventuell darauf, sie zu entfernen. Hat man mehrere Schnitte in den Tropfen gebracht, so verteilt man sie in ihm gleichmäßig. Es geschieht freilich oft, daß beim Auflegen des Deckglases die Schnitte durcheinander, aneinander, ja selbst aufeinander geraten. Hebt man das Deckglas, um Ordnung zu schaffen, einseitig in die Höhe, so erreicht man oft nur das Gegenteil. Man wendet daher ein anderes, relativ einfaches Mittel an. Durch Erwärmen des Objektträgers macht man den Tropfen möglichst flüssig und führt nun ein Haar unter das Deckglas ein, ohne dieses zu heben. Mit dem Haar sucht man

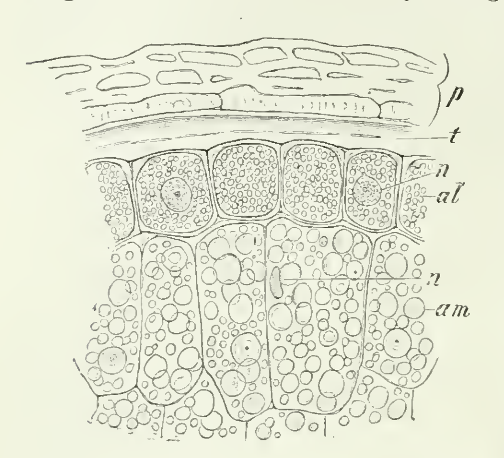


Fig. 74. Querschnitt durch ein Weizenkorn (Triticum vulgare), *p* Fruchthülle, *t* Samenhaut. In den auf letztere folgenden Endospermzellen: *al* Aleuron-, *am* Stärkekörner, *n* Zellkern. Vergr. 240.

die Objekte zu richten, was meistens zu gelingen pflegt. — Vor dem Auflegen des Deckglases ist es übrigens notwendig, sich mit Hilfe einer Lupe zu überzeugen, daß nicht irgendwelche Staubteile in den Glyzerin-Gelatine-Tropfen gelangt sind; diese wären mit einer Nadel zu entfernen.

Die Glyzerin-Gelatine-Präparate bedürfen zunächst keines weiteren Verschlusses; ihre Herstellung ist gerade deshalb sehr einfach, und da sich die meisten pflanzlichen Objekte, auch die tingierten, längere Zeit in Glyzerin-Gelatine halten, dort ihre Strukturverhältnisse oft sogar schärfer hervortreten lassen, so dürfte diese Methode der Einbettung in sehr vielen Fällen zu empfehlen sein.

Nach Fertigstellung des Präparats kann der Objektträger an seinen beiden Enden mit Schutzleisten versehen werden. Es sind das Kartonstückchen von der Breite des Objektträgers, welche die betreffenden Präparat-Bezeichnungen aufnehmen und es auch ermöglichen, die Objektträger, ohne eine Schädigung der auf ihnen befindlichen Präparate befürchten zu müssen, aufeinander zu legen. Anzugeben ist auf den Schutzleisten vor allen Dingen der Name der Pflanze, der Gegenstand und das Aufbewahrungsmedium, etwa vorgenommene Färbungen und das Datum. Man befestigt die Schutzleisten am besten mit Kristall-Palast-Lack, der in größeren Drogenhandlungen zu haben ist, oder dem Universalkitt „Syndetikon". Steht nur Gummi zur Verfügung, so umklebe man die Enden des Objektträgers mit je einem Papierstreifen, dessen Enden übereinander greifen, und befestige auf diesem erst die Schutzleisten, da diese sonst leicht abspringen. Das Abspringen bei Verwendung von Gummilösung wird auch bei unmittelbarem Aufkleben der Schutzleisten an den Objektträger für längere Zeit vermieden, wenn man zu einer Lösung von 100 g Gummi arabicum in 250 ccm Wasser eine Lösung von 2 g krist. Aluminiumsulfat in 20 ccm Wasser hinzufügt. — Präparate, die, wie das heute fast allgemein geschieht, in den in Fig. 28 u. 29 auf S. 46 dargestellten Mappen oder Präparatkästen aufbewahrt werden sollen, und von denen nicht anzunehmen ist, daß sie jemals aufeinander gelegt werden, kann man auch mit den gewöhnlichen dünnen, schon gummierten Zetteln (Etiketten) bekleben, die in allen Größen überall käuflich zu haben sind. Bei der geringen Dicke dieser Zettel treten solche Spannungen nicht ein, die ihr Abspringen vom Glase bewirken könnten.

Man kann auf solchen in den flachen Mappen oder Kästen aufzubewahrenden Präparaten, die keiner Schutzleisten bedürfen, die Aufschriften auch direkt mit einem Glaserdiamanten ausführen, oder, nach einem von A. Bergé empfohlenen Verfahren, mit einem Aluminiumstift. Zu diesem Zweck wird die in Betracht kommende Stelle des Objektträgers zunächst mit einer sirupdicken Lösung von Kalium- oder Natriumsilikat überzogen und dann mit viel Wasser abgewaschen. Solange das Glas noch feucht ist, läßt sich dann mit einem Aluminiumstift auf ihm schreiben[1]. Auch ist eine Glastinte aus Gelanth[2] empfohlen worden, die in 2 Min. vollkommen trocken ist, durch festes Abwischen mit einem trockenen oder feuchten Tuch sich entfernen läßt, während ein leichtes Überwischen die

[1] Aus der Revue „La Nature", 1901, unter „Informations diverses".

[2] P. G. Unna, Monatsh. f. prakt. Dermatol., Bd. XXXII, 1902, S. 343.

Schrift nicht angreift. Diese Gelanth-Tinte besteht aus 7,5 g Zinkoxyd, 7,5 g Gelanth, 15 ccm Wasser; sie kann von der *Schwan*-Apotheke in Hamburg in kleinen, 30 g enthaltenden Fläschchen bezogen werden. Auch die von *Dr. G. Grübler & Co.*-Leipzig geführte Glasschreibtinte, schwarz oder weiß (abwaschbar 10 gr. 0.80 M, nicht abwaschbar 10 gr. 1 M), nach SCHOEBEL, leistet gute Dienste.

Solche Objekte, die beim Einlegen in Glyzerin-Gelatine schrumpfen, verlangen eine Vorbehandlung. Man legt sie in eine verd. Glyzerinlösung, etwa 1 T. Glyzerin auf 9 T. Aq. dest., und läßt diese Flüssigkeit an einem vor Staub geschützten Ort durch Verdunstung des Wassers sich langsam konzentrieren. Ist das Wasser größtenteils verdunstet, so kann die Übertragung des Präparats in die Glyzerin-Gelatine ohne Nachteil vorgenommen werden.

Glyzerin-Gelatine-Präparate, die man sich dauernd zu erhalten wünscht, müssen nach längerer Zeit, etwa einem halben Jahr, doch nicht früher, weil sonst die Deckgläser öfters springen, in einer der weiter angegebenen Weisen luftdicht zugekittet werden. Geschieht das nicht, so pflegen die Deckgläser zu beschlagen, die Präparate nach Jahren auch wohl zu verderben. Man kann die Präparate aber auch in der Weise haltbar machen, daß man sie nach Erstarren der Gelatine in eine Petrischale legt, in die man gleichzeitig einige Gramm Trioxymethylen, von Seidenpapier umhüllt, bringt. Nachdem die Schale einige Tage in einem auf 2—3° unter dem Schmelzpunkt der Gelatine erwärmten Thermostaten gestanden hat, ist durch die in der Wärme aus dem Trioxymethylen entwickelten Formaldehyd-Dämpfe die Gelatine am Deckglasrand gehärtet und das Präparat damit haltbar gemacht worden[1]).

Um die für den Gebrauch notwendige jedesmalige Verflüssigung durch Erwärmung zu vermeiden, kann man die Glyzerin-Gelatine durch Zusatz von Borax auch in bei Zimmertemperatur flüssigen Zustand versetzen und so eine Masse erhalten, die anstelle der gewöhnlichen Glyzerin-Gelatine verwendet werden kann[2]). 5 g Borax werden in 240 ccm Wasser gelöst, 25 g konz. Glyzerin hinzugefügt und mit dieser Mischung 40 g feinste weiße Gelatine übergossen. Das ganze wird in Wärme gelöst und filtriert. Diese Flüssigkeit erstarrt zunächst nach dem Erkalten, man kann sie aber dauernd in flüssigem Zustand erhalten, wenn man sie längere Zeit auf dem Wasserbad oder im Wärmeschrank warm hält. Die Mischung muß dabei etwas dickflüssig werden. Sollte sie sauer reagieren, so mache man sie durch tropfenweisen Zusatz von gesättigter Sodalösung schwach alkalisch. Ein Verschluß mit Kanadabalsam o. ä. ist auch hier anzuraten.

Wie die Glyzerin-Gelatine, ist auch das konzentrierte und das in verschiedenem Grade mit Wasser verdünnte Glyzerin zum Einlegen von frischen, stärke- und chlorophyllhaltigen, auch von in Alkohol oder in verd. Säuren fixierten und mit Karmin gefärbten und überhaupt den meisten pflanzlichen Objekten geeignet. Zu ähnlichen Zwecken werden auch halb und ganz konzentrierte, wässrige Lösungen von essigsaurem Kali und Chlorkalzium benutzt. Sie kommen namentlich für solche Objekte in Betracht, die in den zuvor genannten Medien zu hell oder selbst entfärbt werden. Freilich hat oft das essigsaure Kali oder Chlorkalzium die entgegengesetzte Wirkung und macht die Gewebe allmählich undurch-

[1]) Nach dem Vorschlag von ED. KLEMM, Mikrokosmos, Bd. XI, 1917/18, S. 45.
[2]) Vgl. H. FISCHER, Zeitschr. f. wiss. Mikr., Bd. XXIX, 1912, S. 65.

sichtig. Vielfache Anwendung für fixierte und gefärbte Präparate findet Kanadabalsam und Dammarlack, wie wir das späterhin noch sehen werden. — Sollen die Präparate in Glyzerin oder in Chlorkalzium gelangen, so empfiehlt es sich ebenfalls meist, um Schrumpfungen zu vermeiden, sie erst in eine stark mit Wasser verdünnte Lösung dieser Medien zu legen, durch Verdunstung diese sich konzentrieren zu lassen und hierauf erst zum Einschluß des Präparats in der konzentrierten Flüssigkeit zu schreiten.

Sehr zu empfehlen sind auch die beiden HOYERschen Einschlußflüssigkeiten[1]), die eine für Anilin-, die andere für Karmin-Präparate. Diese Einschlußflüssigkeiten sind fertig von *Dr. Grübler & Co.*-Leipzig zu beziehen. Es sind das Lösungen ausgelesener, weißer Stücke von arabischem Gummi in der offizinellen Lösung von essigsaurem Kali oder in essigsaurem Ammoniak für die mit Anilin gefärbten Präparate, in einer mehrprozentigen Lösung von Chloralhydrat, der noch 5—10% Glyzerin zugesetzt werden, für die mit Karmin oder Hämatoxylin gefärbten Präparate. Das Gummi löst sich innerhalb weniger Tage und bildet eine sirupdicke Flüssigkeit. Ein weiterer Verschluß der Präparate ist nicht nötig, da das Gummi am Rand des Deckglases binnen 24 St. zu einer homogenen, festen Masse eintrocknet und so den Verschluß selber besorgt.

Um provisorisch Präparate zu verschließen, die in einer der Verdunstung ausgesetzten Flüssigkeit liegen und zunächst noch weiteren Manipulationen zugänglich bleiben sollen, benutzt man am besten Wachs. Mit dem Docht eines für eine Weile angezündeten und wieder ausgelöschten, bzw. über einer Flamme erwärmten Wachskerzchens oder Wachsstocks machen wir zunächst vier Tupfen an den vier Ecken des Deckglases, um es festzulegen, und ziehen dann über die Deckglasränder hin, bis der Verschluß vollständig ist. Dieser Verschluß kann jeden Augenblick leicht wieder entfernt werden. Statt eines Wachskerzchens kann man sich gelbes Wachs, dem man etwas venetianisches Terpentin zugesetzt hat, zu diesem Zweck bereit halten.

Zarte Objekte, welche Gefahr laufen, durch das Deckglas zerdrückt zu werden, kann man durch Wachstupfen, sogenannte Wachsfüßchen, auf denen das Deckglas mit den Kanten ruht, oder auch dadurch schützen, daß man kleine Körper, wie Deckglasstückchen, Glimmerplättchen, entsprechend dicke Glasfäden oder Haare in den Einschlußtropfen bringt. Auch kann man sich dadurch helfen, daß man die vier Ecken des Deckglases in einer Flamme zu kleineren oder größeren, als Füßchen wirkenden Kügelchen umschmilzt[2]).

Präparate, die in einem flüssig bleibenden Medium, das außerdem der Gefahr des Eintrocknens ausgesetzt ist, eingebettet worden sind, müssen wir luftdicht zukitten[3]). Um dies zu bewerkstelligen, entfernen wir zunächst alle überschüssige Flüssigkeit am Deckglasrand mit Fließpapier, reinigen diesen Rand möglichst sorgfältig und tragen dann erst den Kitt auf. Am einfachsten wird das Verkitten mit einer sirupdicken Lösung von Kanadabalsam in Terpentin[4]) oder in Chloroform oder in Benzol vollzogen. Dieser Kanadabalsam bietet den Vorteil, daß er fast jede andere Flüssig-

[1]) H. HOYER, Biol. Zentralbl., Bd. II, 1882, S. 23.
[2]) Nach A. LEGENDRE, C. R. Soc. Biol., Paris, Bd. LXXVI, 1914, S. 265.
[3]) Über Bezugsquellen der Kitte und auch deren Darstellung vgl. Reg. IV.
[4]) Von HILLHOUSE zuerst empfohlen. Journ. of the R. Micr. Soc. London, 1883, S. 599. Vgl. auch L. DIPPEL, Bot. Zentralbl., Bd. XVI, 1883, S. 159.

keit vom Objektträger und Deckglasrand verdrängt und somit an diesem haftet. Selbst bei mit Glyzerin verunreinigten Objektträgern und Deckgläsern ist auf solche Weise ein vollkommener Verschluß möglich. Auch dringt der Kanadabalsam stets etwas unter das Deckglas und bewahrt so das Objekt vor Druck, ohne andere Schutzmittel dafür zu erfordern. Die Nachteile des Kanadabalsam-Verschlusses liegen hingegen darin, daß er von dem Öl für homogene Immersion gelöst wird. Kommt somit ein solcher Immersionstropfen mit dem Kanadabalsam in Berührung, so wird das ganze Deckglas verunreinigt. Abhelfen kann man diesem Übelstand dadurch, daß man eine besondere Flüssigkeit für homogene Immersion anwendet, welche den Kanadabalsam nicht angreift. Eine solche Flüssigkeit ist in einer konz. Lösung von reinem, trockenem Jodzink in reinem Glyzerin gegeben. Diese Lösung dampft man nach dem Abfiltrieren nötigenfalls auf dem Wasserbad bis zum Brechungsindex 1,518 (für die Frauenhofersche Linie *D* des Spektrums) ein[1]). Sie hat den Vorteil, daß sie sich leicht mit Wasser vom Deckglas abspülen läßt. Doch auch in anderer Weise läßt sich die nachteilige Eigenschaft des Kanadabalsams, in dem Immersionsöl löslich zu sein, heben: man braucht nämlich auf den ersten Verschluß mit Kanadabalsam nur einen oder mehrere andere mit solchen Kitten folgen zu lassen, die im Immersionsöl unlöslich sind. Auf diese kommen wir alsbald zu sprechen. — Die Fähigkeit des Kanadabalsams, andere Flüssigkeiten vom Glase zu verdrängen und so selbst an verunreinigten Objektträgern und Deckgläsern zu haften, macht ihn als Verschlußmittel sehr wertvoll dort, wo ein sehr kleines Objekt, das man unter Deckglas in Beobachtung hatte, aufbewahrt werden soll, ohne daß man es auf einen anderen Objektträger zu übertragen wagt. Die Gefahr, das Objekt zu beschädigen, oder es nach der Übertragung nicht mehr wiederzufinden, wird auf diese Weise beseitigt. — Das Zukitten mit dem Kanadabalsam erfolgt am besten vermittels eines etwa streichholzdünnen Glasstabs. Man läßt zunächst den überschüssigen Kanadabalsam in das Aufbewahrungsfläschchen abtropfen und setzt hierauf erst den Glasstab am Rand des Deckglases an. Dann zieht man an diesem Rand entlang, und zwar so, daß der Balsam auch ganz wenig über ihn greift, bis der Verschluß im ganzen Umfang vollendet ist. Ein wiederholtes Eintauchen der Glasstabspitze in den Kanadabalsam wird hierbei notwendig werden, doch darf dessen aufgetragene Menge nur sehr gering sein. Während dieser Manipulation hüte man sich, das Deckglas mit dem Glasstab zu verrücken. Gewöhnlich schließt schon der erste Balsamrahmen das Präparat hermetisch ab; unter Umständen wird man nach einigen Tagen eine zweite Balsamschicht auftragen. Der Balsam ist schon nach wenigen Tagen soweit eingetrocknet, daß das Präparat aufbewahrt werden kann. — In ganz ähnlicher Weise wie der Kanadabalsam ist eine Lösung von Kautschuk in Chloroform als Deckglaskitt zu verwenden. Sie bietet ähnliche Vorteile und Nachteile. Das Deckglas wird mit der Kautschuklösung schnell umrandet und nach $^1/_4$—$^1/_2$ Std. bereits eine zweite und, wenn nötig, eine dritte Schicht aufgetragen. — Auch venezianisches Terpentin, das man als Harz (Venezian. Terpent. rect.) von *Dr. Grübler & Co.*-Leipzig, beziehen kann, läßt sich empfehlen. Es wird in einer Porzellanschale auf dem Sandbad 4—6 Stunden eingedampft, bis es, erstarrt, die gewünschte Härte aufweist und nicht mehr klebt. Der Verschluß wird dadurch bewirkt, daß man das ven. Terpentin

[1]) Nach Brun, mitgeteilt von H. Fol im Lehrbuch d. vergl. mikr. Anat., S. 37.

um das Deckglas herumgießt[1]). Sehr verbreitet ist auch als Verschlußmittel der schwarze Asphaltlack, der besonders als Maskenlack Nr. 3[2]) in Anwendung kommt. Er gibt einen guten, lange Jahre hindurch haltenden Verschluß. Der Maskenlack haftet schlecht an nicht völlig reiner Glasfläche, namentlich wenn diese mit Glyzerin verunreinigt wurde. Unter solchen ungünstigen Verhältnissen ausgeführte Verschlüsse springen später ab. Gut ausgetrockneter Maskenlack wird durch die Immersionsöle nur langsam nach längerem Kontakt angegriffen. Der Verschluß macht mehr Mühe als beim Kanadabalsam. Zunächst ist bei Anwendung von Maskenlack notwendig, Schutzleisten anzubringen. Man führt diese in der einfachsten Weise aus, indem man auf dem gut, womöglich zuvor mit Spiritus gereinigten Objektträger mit einem feinen, in nicht zu dickflüssigen Maskenlack getauchten Pinsel zwei Querstreifen zieht. Diese Streifen werden in solcher Entfernung angebracht, daß das aufzulegende Deckglas mit seinen Rändern auf ihnen zu ruhen kommt. Statt zwei solcher Streifen läßt sich auch ein viereckiger Rahmen ziehen, an dem man evtl. eine Öffnung läßt, damit die überschüssige Flüssigkeit leicht entweichen kann. Will man die Objekte unter runden Deckgläsern aufbewahren, so müssen auch runde Rahmen gezogen werden. Hierzu dienen kleine Drehtische, die von den meisten Optikern zu diesem Zweck geliefert werden. Das Präparat wird auf einem solchen Tisch in langsame Drehung versetzt, während der mit Maskenlack getränkte Pinsel an entsprechender Stelle senkrecht gegen den Objektträger gedrückt wird. In die Mitte eines solchen, in dieser oder jener Weise ausgeführten Rahmens wird ein Tropfen der Aufbewahrungsflüssigkeit gebracht und hierauf das Deckglas mit kleiner, seitlicher Schwenkung, damit keine Luftblasen eingefangen werden, aufgelegt. Sollte letzteres trotzdem geschehen sein, so kann man sie durch vorsichtiges, einseitiges Emporheben des Deckglases beseitigen. Werden hierbei die Präparate aus ihrer Lage verschoben, so sucht man sie in der schon angegebenen Weise mit einem Haar zu richten. Man legt die Deckgläser entweder den frisch hergestellten, nur etwas eingetrockneten Rahmen auf und hat den Vorteil, daß sie an ihnen haften, oder man stellt sich von den Rahmen einen Vorrat her, läßt sie völlig trocken werden und verlangt von ihnen nun, daß sie den Druck des Deckglases auf das Objekt verhindern. Ist das Deckglas aufgelegt, so wird alle etwa hervorgetretene Flüssigkeit zunächst auf das sorgfältigste mit Fließpapier entfernt. Bei einiger Übung wird man, was sehr erwünscht ist, dahin gelangen, nicht mehr Flüssigkeit anzuwenden, als unter dem Deckglas festgehalten wird. Bei etwaigem Mangel ist mit sehr feinem Pinsel vom Deckglasrand aus die nötige Flüssigkeitsmenge zuzusetzen. Ist das Präparat zum Verkitten reif, so wird es mit Maskenlack umzogen. Man benutzt hierzu einen ziemlich dickflüssigen Lack und führt den Pinsel so, daß er bis über den Deckglasrand reicht. Zum Verkitten runder Deckgläser bedient man sich wieder des Drehtisches. Mit einem Verschluß ist es bei Maskenlack nicht getan. Ist die erste Schicht trocken, so trägt man eine zweite auf, wenn nötig, nach abermaligem Trockenwerden eine dritte und folgende. Der Verschluß ist vollkommen, wenn das gegen die Lichtquelle gehaltene Präparat keine

[1]) Nach M. Plaut, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd XXX, 1913, S. 476. Das Kännchen wird von *Z. A. Fränkel*, Frankfurt a. M., Zeil 23, für 25 M geliefert; ein dazugehöriger Brenner kostet 25 M.

[2]) Erhältlich von der Lackfabrik *A. Beseler & Co.*, Berlin SW 61, Teltower Str. 5.

Lichtlinien am Deckglasrand zeigt. Die zweite und die folgenden Schichten werden mit dünnflüssigerem Lack ausgeführt, und zwar wird dieser mit Alkohol verdünnt. — Ganz so wie beim Maskenlack verfährt man auch bei Anwendung von Gold-Size. Dieser hat vor allem den Vorteil, vom Immersionsöl nicht angegriffen zu werden. Gold-Size wird für das wiederholte Auftragen mit reinem Leinöl verdünnt. Seiner Eigenschaft wegen, den Immersionsflüssigkeiten zu widerstehen, kann man ihn auch benutzen, um mit Kanadabalsam oder Kautschuklösung ausgeführte Rahmen an Präparaten zu decken, die bei homogener Immersion zu studieren sind. Gold-Size selbst haftet an mit Glyzerin verunreinigten Glasflächen nicht. — Ähnliche Eigenschaften wie dem Gold-Size kommen auch den Bernsteinlacken, die ebenfalls Leinöllacke sind, zu. Man kann sie gleichfalls zum Decken der Kanadabalsam- und Kautschuk-Verschlüsse benutzen und so sehr haltbare Präparate herstellen. — Sehr dauerhaft ist auch der Verschluß mit Heydenreichschem Deckglaskitt. Als Leinöllack widersteht auch dieser den Immersionsölen. Sein Nachteil besteht darin, daß er langsam trocknet. Nach 8 Tagen ist dies übrigens so weit geschehen, daß der Nagel nur noch Eindrücke hinterläßt. Dieser Zustand währt monatelang. Schließlich wird der Kitt hart und glänzend wie Glas. Zum Zweck der Anwendung zieht man, wie wir es beim Maskenlack angegeben haben, mit einem feinen Pinsel auf dem Objektträger zunächst einen ganz flachen Ring oder ein Quadrat. Diese Rahmen läßt man austrocknen; man fertigt am besten einen Vorrat davon an. Will man nun ein Präparat einschließen, so streicht man auf den Rahmen eine eingedickte alkohol. Schellacklösung. Nach 1—2 Min. bringt man die Einschlußflüssigkeit in die Mitte des Rahmens, legt das Objekt hinein und bedeckt es mit einem Deckglas, dessen Ränder man leicht andrückt. Nach 1—2 St. ist der Schellack trocken. Etwa herausgepreßte Tropfen der Einschlußflüssigkeit entfernt man mit Fließpapier und trägt nun den Verschluß mit dem Deckglaskitt mäßig dick auf. Nach 1—2 Wochen muß eine zweite Schicht, nach 1—2 Monaten eine dritte Schicht Deckglaskitt aufgetragen werden, jedesmal mit etwas über die vorhergehenden greifenden Rändern. In Balsam eingeschlossene Präparate verlangen keinen Unterrahmen. Sie werden zunächst mit Schelllacklösung und hierauf nur einmal mit dem Heydenreichschen Deckglaskitt umrandet[1]). — Liegen die Präparate in einem Einschlußmedium, das die Harzfirnisse angreift, so empfiehlt es sich auch wohl, den Verschluß des Deckglasrandes zunächst mit Paraffin vorzunehmen[2]). Ein an seinem Ende stumpf umgebogener, in einem Holzschaft befestigter Kupferdraht wird in einer Flamme mäßig erhitzt und ein Paraffinstück von einer festen, schwer schmelzbaren Sorte mit ihm berührt. Es haftet am Draht sofort ein Tropfen, den man an den Ecken des Deckglases aufträgt. Ist dieses Paraffin an den Ecken erkaltet, so verschließt man in ähnlicher Weise auch an den Seiten. — Die hier angeführten Verschlußmittel werden für alle Fälle zur Herstellung dauerhafter Präparate genügen.

Sind die einzuschließenden Objekte etwas dicker als gewöhnlich, so legt man einen mittels zweier Punzen aus entsprechend starkem Papier geschlagenen 1 mm breiten Ring, der etwa 1 mm enger ist als die zu benutzenden Deckgläser und mit dem Einschlußmittel befeuchtet wurde, auf den Objektträger. Dann füllt man die so gebildete „Papierzelle" mit dem

[1]) L. Heydenreich, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. II, 1884, S. 333.
[2]) H. Fol, Lehrb. d. vgl. mikr. Anat., Leipzig, 1896. S. 143.

Einschlußmittel, bringt das Objekt hinein und das Deckglas darauf, füllt den Raum zwischen Papier und Deckglasrand mit Glyzerin-Gelatine und schließt das Ganze mit Gold-Size ab[1]). Sollen besonders starke Objekte eingeschlossen werden, so kittet man dem Objektträger Glasringe auf. Zum Aufkitten kann man die verschiedenen angeführten Kitte benutzen; eine relativ dünnflüssige Kautschuklösung ist da besonders zu empfehlen.

Um kleine Gegenstände, die mit dem bloßen Auge nicht zu sehen sind, oder ganz bestimmte Stellen im Präparat wiederzufinden, ist es das Einfachste, mit einem scharfen Instrument, rechts und links von der zentralen Öffnung, auf dem Objekttisch je ein Kreuz einzuritzen. Während nun das Objekt, das man wiederzufinden wünscht, eingestellt ist, trägt man die durchscheinenden Kreuze mit scharf zugespitztem Farbenstift (vgl. S. 103), oder mit Feder und flüssiger Tusche, oder auch mit einem Glaserdiamanten auf dem Objektträger ein. So gelingt es, nach Belieben den Objektträger später wieder in die gewünschte Lage zurückzubringen. — Will man von mehreren in demselben Präparat eingeschlossenen Objekten eins hervorheben, so zieht man um dieses auf dem Deckglas oder an der Unterseite des Objektträgers etwa mit der Diamantspitze oder mit passender Farbe einen Kreis. Zu dem gleichen Zweck sind auch besondere Objektmarkierer konstruiert worden. *W. & H. Seibert* liefern einen solchen für 240 M. Man läßt dann den Objektträger in der gewünschten Lage auf dem Objekttisch liegen, entfernt das Objektiv und schraubt an dessen Stelle den Markierer an, der zuvor mit seinem Ende einem Stempelfarbekissen aufgetupft wurde. Man senkt den Tubus, bis der Markierer das Deckglas berührt. Er zeichnet auf diesem mit seinem ausgehöhlten Ende einen Ring, den man, um ihn dauerhaft zu machen, weiterhin mit Lack nachzieht. Vor Beschädigung ist das zu bezeichnende Objekt dadurch geschützt, daß die Spitze des Markierers bei leichtem Druck gehoben wird. Das Entfernen des Objektivs wird überflüssig, wenn man den Markierer an den Arm eines Revolvers anschraubt und an Stelle des Objektivs nach Bedarf einstellt. *Leitz*, *W. & H. Seibert* und *Winkel* stellen einen Markierer mit Diamantspitze her; mit dieser Spitze, die durch eine Drehhülse herumgeführt werden kann, wird ein Kreis in das Deckglas eingeritzt. Eine besondere Einstellung der Diamantspitze gestattet, die Größe der zu ziehenden Kreise innerhalb bestimmter Grenzen zu verändern. Die Größe des Durchmessers kann an einer Skala abgelesen werden. Es sind Vorkehrungen getroffen, um eine Beschädigung des Präparats durch Druck zu verhindern. Wird der Apparat nach Gebrauch einer Ölimmersion benutzt, so ist er auf das sorgfältigste mit Benzin oder Chloroform zu reinigen. Preis bei *Seibert* 1000—1400 M, bei *Leitz* 400 M.

Wünscht man bei Demonstrationen auf eine bestimmte Stelle innerhalb des Gesichtsfeldes besonders hinzuweisen, so benutzt man am besten eins der jetzt von fast allen optischen Werkstätten erhältlichen Zeigerokulare, in welchen eine verstellbare Spitze als Zeiger dient (vgl. auch Reg. IV Zeigerokular). Ein solches kann man sich übrigens leicht selbst aus jedem Okular herstellen, indem man zwischen 2 ringförmige Pappscheiben von der Größe der Okularblende ein Pinselhaar so einklebt, daß dessen Spitze die Mitte der Scheibe nicht ganz erreicht[2]). Diese Scheibe

[1]) Nach A. B. Lee in Lee-Mayer, Grundzüge der mikroskopischen Technik, 4. Aufl., 1910, S. 241.

[2]) K. Schiino, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXIX, 1912, S. 321.

legt man bei Bedarf auf die Okularblende. Übrigens wird von *Leitz* auch ein doppeltes Zeigerokular zum Preise von 2200 M hergestellt, bei dessen Anwendung zwei Personen zu gleicher Zeit die mit dem Zeiger markierten Stellen betrachten können[1]).

Zum Wiederfinden sehr kleiner Objekte und bestimmter Stellen in nicht markierten Präparaten und zum gleichmäßigen Durchmustern eines Präparats bedient man sich der in der Einleitung (S. 39 ff.) besprochenen beweglichen Objekttische. Der einfache Finder von S. Becher leistet gute Dienste: eine mit numerierten Quadraten versehene, auf einen Winkel von Metall oder Glas gekittete Glasplatte, die über das Präparat gebracht und an der die über der betreffenden Präparatstelle liegende Zahl abgelesen und notiert wird. Der Apparat kann leicht selbst hergestellt werden, ist aber auch bei *Leitz* erhältlich. *Zeiss* liefert eine ebenfalls sehr einfache Findervorrichtung. Sie besteht aus einem auf Glas photographierten Netz von kleinen, numerierten Quadraten (*Zeiss*, Mikro 184, 1913, Nr. 12 92 20 zum Preise von 800 M, Finder nach Maltwood) und wird ähnlich gehandhabt wie die vorige.

Wir wenden uns jetzt an den Samen der weißen Lupine (Lupinus albus) oder einer ihr verwandten Art. Wir halbieren den Samen wiederum quer und führen dann die Schnitte an der befeuchteten Schnittfläche aus. In Wasser untersuchte Präparate zeigen in den Zellen abgerundete Aleuronkörner mit Vakuolen. Will man die Körner in ihrer natürlichen Gestalt sehen, so kann dies unter Glyzerin geschehen. Die Körner zeigen sich da zunächst stark lichtbrechend, eckig; allmählich werden sie im Innern schwammig, körnig. Sie füllen, dicht aneinanderschließend, die Zellen aus; eine geringe Menge Grundsubstanz liegt zwischen ihnen; mehr Grundsubstanz läßt sich an den Wänden der Zellen beobachten. Die Wände der Zellen sind stark verdickt und getüpfelt, eine Struktur, die wir jedoch erst später an günstigeren Objekten studieren wollen. Mit alkohol. Boraxkarmin werden die Körner alsbald rot, in Jodglyzerin nehmen sie eine schöne goldgelbe Farbe an.

Wir schälen hierauf einen Rizinus-Samen, durchschneiden ihn der Quere nach und stellen entsprechende Präparate aus ihm her. Das Gewebe des Endosperms läßt sich ganz vorzüglich schneiden, es enthält sehr viel Fett und braucht nicht befeuchtet zu werden. Die ersten Schnitte untersuchen wir in Olivenöl oder Terpentin[2]). Die in den Zellen des Gewebes verteilten Aleuronkörner treten uns in Gestalt kleiner, eiförmiger Körner entgegen (Fig. 75 *B*). Das schmälere Ende dieser Körner wird von einem kleinen, kugeligen Gebilde eingenommen, das wie hohl erscheint, weil es das Licht schwächer als das Olivenöl bzw. Terpentin bricht. Dieses Gebilde wird als Globoid bezeichnet; es besteht wohl auch aus Globulinen, die aber mit dem Kalzium- und Magnesiumsalz (dem Phytin) einer organischen Phosphorsäure (der Phytinsäure) verbunden sind. Auch Bernsteinsäure wurde in den Globoiden von Rizinus nachgewiesen[3]). Der übrige Inhalt der Kör-

[1]) S. Becher, Zeitschr. f. wiss. Mikr., Bd. XXXIII, 1916, S. 138. Siehe auch *Leitz*-Katalog 46 D, Nr. 176.

[2]) Nach Winton, zitiert v. Osw. Richter, Zeitschr. f. wiss. Mikr., Bd. XXII, 1905, S. 245.

[3]) Von B. Gram, zit. bei Fr. Czapek, Biochemie d. Pfl., 2. Aufl., Bd. II, 1920, S. 230, bzw. Ebenda, 3. Aufl. 1922.

ner erscheint weiß, ziemlich stark lichtbrechend, stellenweise mehr oder weniger eckig. — Wir untersuchen nunmehr andere Schnitte in Wasser. Die Globoide brechen das Licht stärker als das Aleuronkorn, und man erkennt jetzt unschwer, daß sie solide Körper sind (Fig. 75 *A*). Die Aleuronkörner schließen einen, seltener mehr Eiweißkristalle ein. Sie sind in einer fettreichen Grundsubstanz eingebettet. Das Untersuchungswasser beginnt alsbald das Öl aus der Grundsubstanz zu verdrängen. Letztere wird allmählich desorganisiert; große Ölmassen sammeln sich auf und an dem Objekt. Diese haften z. T. dem Objekt und dem Glas an und haben dann unregelmäßige Form, z. T. liegen sie frei und runden sich dann kugelig ab. Die meisten werden von zahlreichen Vakuolen getrübt. Stellt man auf den optischen Durchschnitt einer Ölkugel ein, so erscheint sie hellgrau und von einer schmalen, schwarzen Randzone umgeben. Senkt man den Tubus, so schwindet der schwarze Rand, die Scheibe erscheint heller konturiert. Hebt man den Tubus, so wird die schwarze Randzone, die bei mittlerer Einstellung nur schmal war, breiter. Die Öltropfen zeigen somit entgegengesetzte Erscheinungen, als wir sie früher an Luftblasen beobachtet hatten. Die Luft bricht das Licht schwächer, das Öl stärker als das umgebende Wasser: daher ihr entgegengesetztes Verhalten.

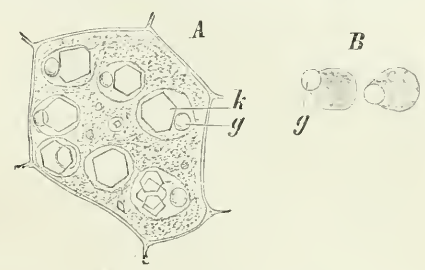


Fig. 75. Aus dem Endosperm von Rizinus communis. *A* eine Endospermzelle mit Inhalt in Wasser; *B* einzelne Aleuronkörner in Olivenöl; *g* das Globoid; *k* der Eiweißkristall. Vergr. 540.

Setzen wir nun dem im Wasser befindlichen Präparat von Rizinus vom Deckglasrand aus Alk. abs. hinzu, so hellt sich das Präparat etwas auf; gleichzeitig treten die Eiweißkristalle in den Aleuronkörnern sehr scharf hervor. Sie zeichnen sich jetzt sehr deutlich, so daß diese Methode der Behandlung sich empfiehlt, um ihre Form zu studieren. Es sind Kristalle der tetraëdrischen Hemiëdrie des regulären Systems. Nach längerer Einwirkung des Alkohols schwinden die Öltropfen mehr und mehr, da das Rizinusöl zum Unterschied von anderen fetten Ölen mit Alk. abs. mischbar ist. — Wir stellen uns jetzt ein anderes Präparat her, das wir in einen Tropfen Eisessig auf den Objektträger legen und dann mit dem Deckglas bedecken. Die Eiweißkristalle schwinden, rasch quellend, in den Aleuronkörnern; diese nehmen bedeutend an Volumen zu, die Globoide treten sehr deutlich in jedem Aleuronkorn hervor. Fettropfen sind aber nicht zu sehen, da das Rizinusöl, wiederum gegen die Regel, sich mit Eisessig mischt. — Sonst sind gerade Alk. abs. und Eisessig, weil sie die fetten Öle nicht oder nur wenig, die ätherischen Öle hingegen meist gut lösen, die besten Reagentien, um diese unter dem Mikroskop zu unterscheiden. Von den ätherischen Ölen lösen sich in den beiden genannten Reagentien die Terpene etwas weniger leicht als die anderen. Chloroform und Äther lösen fette und ätherische Öle in gleicher Weise. — Zu einem im Wasser liegenden Präparat fügen wir mit Wasser verdünnte Alkannatinktur hinzu. Alsbald haben die Fettmassen Farb-

stoff aufgespeichert und sich rotbraun gefärbt, ein Verhalten, das auch die ätherischen Öle und ähnlich auch die Harze zeigen. Sehr schön treten die Eiweißkristalle hervor, wenn man die Schnitte in 1-proz. Osmiumsäure legt; sie nehmen nach und nach einen bräunlichen Ton an. Das Öl wird durch die 1-proz. Osmiumsäure langsam geschwärzt, eine Eigenschaft, welche die fetten Öle ebenfalls mit den ätherischen teilen, die aber für beide nicht charakteristisch ist, da auch viele andere organische Substanzen in Osmiumsäure schwarz werden.

Das Gemeinsame der chemischen Verbindungen, die mit Osmiumsäure Schwarzfärbung ergeben, ist das Vorhandensein einer doppelten Bindung der C- oder CH-Atome. Wenn in einem Körper durch Umlagerung der Atome die ursprünglich vorhandene, doppelte Bindung in die einfache übergeführt wird, so geht die Eigenschaft der Schwärzung durch Osmiumsäure verloren und umgekehrt. Es ist also das Osmium kein spezielles Reagens auf Fett, sondern auf doppelte Bindung[1]).

Um die verschiedenen Bestandteile des Aleuronkorns von Rizinus eingehender zu prüfen, verfährt man zweckmäßig folgendermaßen. Aus einem feinen Endospermquerschnitt entfernen wir zuerst durch Einlegen in Alk. abs. das Fett. Den in Alkohol liegenden Schnitt betrachten wir unter dem Mikroskop, wobei wir die Aleuronkörner besonders ins Auge fassen. Setzen wir seitlich an das Deckglas 4-proz. Ferrozyankaliumlösung hinzu, so löst sich vor unseren Augen die Grundmasse der Körner; die Kristalle und die Globoide treten hervor. Setzen wir dem Präparat weiter Kalilauge in zwanzigfacher Verdünnung zu, so sehen wir, daß die Kristalle sich sofort auflösen. Nachdem wir nun mit Fließpapier die Kalilauge schnell entfernt und durch 3-proz. Essigsäure ersetzt haben, sehen wir, daß auch die Globoide in Lösung gehen.

Dieses Objekt läßt sich sehr schön mit einer konz. Lösung von Pikrinsäure in Alk. abs. fixieren[2]), und mit Eosin färben, um es als Dauerpräparat aufzubewahren. Die Fixierung in dem Pikrinsäure-Alkohol hat einige Stunden zu dauern; dann wäscht man die Schnitte in Alkohol aus und färbt sie in wenigen Minuten mit einer Lösung von Eosin in Alk. abs. Hierauf werden die Schnitte wieder in Alk. abs. abgespült, in Nelkenöl übertragen und schließlich in einen Tropfen Kanadabalsam, der in Chloroform gelöst ist, auf den Objektträger gelegt und mit Deckglas überdeckt. Das Präparat ist dann fertig und zeigt die Grundsubstanz dunkelrot, die Eiweißkristalle gelb gefärbt, während die Globoide nahezu farblos erscheinen.

Will man die Eiweißkristalle für sich untersuchen, so empfiehlt es sich, kleine, etwa durch Äther entfettete Teilchen des Endosperms in eine 20-proz. wässrige Lösung von Borax-Weinstein zu legen. Darin lösen sich die Globoide und ein großer Teil der Grundsubstanz, so daß die Kristalle deutlich hervortreten[3]). — Um Präparate zu erhalten, in denen ebenfalls nur Eiweißkristalle, diesmal aber gefärbt, hervortreten, bringt man die vom fetten Öl befreiten Schnitte in Eosinlösung, wäscht sie in Alkohol gut aus und überträgt sie in Xylol und darauf in Xylol-Kanadabalsam. Die Eiweißkristalle zeigen sich dann schön rot gefärbt. Hier und da kann

[1]) Vgl. Neubauer, Neurol. Zentralbl., Bd. XXI, 1902, S. 981.
[2]) Über weitere Fixierungs- und Färbungsmethoden vgl. Reg. IV Aleuron.
[3]) B. Gram, Landw. Vers.-Stat., Bd. LVII, 1902, S. 263.

man auch, hellgelb gefärbt, ein Häutchen erkennen, das die Aleuronkörner umgibt, aber wohl nicht als Bestandteil der Aleuronkörner anzusehen ist[1]).

Sehr klare Bilder[2]) der Eiweißkristalle von Rizinus erhält man an dünnen Schnitten, die in Alk. abs. zunächst entfettet, dann 10 Min. lang in eine verd. Tanninlösung gelegt und, nach sorgfältigem Auswaschen mit Wasser, in eine 2-proz. Osmiumsäure übertragen werden. Die Eiweißkristalle färben sich hierbei schön braun. Diese Färbung scheint durch eine Verbindung von Gerbstoff mit Eiweiß veranlaßt zu sein. Ein anderes Tanninverfahren[3]) beruht darauf, daß die Schnitte erst 24 Std. in Alk. abs. verweilen, dann eine Std. lang in eine 25-proz. wässr. Tanninlösung kommen, mit Aq. dest. ausgewaschen werden und in eine wässr. Lösung von Kaliumbichromat gelangen. In letzterer bleiben sie so lange, bis sie braun oder gelblich geworden sind. Die Präparate halten sich sehr gut in Glyzerin, und die Aleuronkörner sind so durchscheinend, daß sie alle Einschlüsse deutlich zeigen. An Stelle der Behandlung mit Kaliumbichromat kann eine solche mit wässr. 10—20-proz. Eisensulfatlösung treten. Die Aleuronkörner werden alsdann tiefblau, beinahe schwarz gefärbt. Das mit Wasser ausgewaschene Präparat entwässert man mit Alkohol, behandelt es mit Nelkenöl und schließt es in Kanadabalsam ein.

Als ein gutes Färbungsmittel der Fette ist Sudan III empfohlen worden. Es färbt sie lebhaft rot; so aber auch Wachs, Kutin und Suberin, Harze und den Milchröhreninhalt, während Zellulose-, verschleimte und meist auch verholzte Membranen damit ungefärbt bleiben. Letztere können unter Umständen aber auch veilchenblau und ganz ausnahmsweise rötlich werden[4]). Eine schöne Doppelfärbung fetthaltiger Objekte erhält man durch Anwendung von Methylenblau und Sudan[5]). Das Methylenblau (1 Vol. einer gesätt. Lösung des Farbstoffs in 95-proz. Alkohol mit 40 Vol. Aq. dest. gemischt) färbt die Protoplasten intensiv, das Fett jedoch nicht, Sudan III (Lösung von 0,1 g in 20 ccm 95-proz. Alkohol) verhält sich umgekehrt. Zur Ausführung der Methylenblau-Sudan-Färbung legt man die Objekte in einen Tropfen Formol auf den Objektträger; nach ca. 5 Min. fügt man einen Tropfen der Methylenblau-Lösung hinzu, mischt die Flüssigkeiten mit einem Glasstäbchen und läßt 10 Min. stehen. Dann setzt man eine Öse voll einer frisch bereiteten Mischung von einem Tropfen Sudanlösung und einem Tropfen Wasser hinzu, worauf man beobachten kann, daß das Zytoplasma bzw. auch der Zellkern sich blau, das Fett rot färbt. Statt des Sudan III kann man auch „Gelb“ (Dimethylamidoazobenzol-Lösung von 0,4 g auf 100 ccm 95-proz. Alkohol) anwenden, einen Farbstoff, der das Zytoplasma vollständig farblos läßt[6]).

Eiweißkristalle von außerordentlicher Schönheit, die alle Eiweißreaktionen leicht zeigen, finden wir in den Zellen des den eßbaren Teil der überall käuflichen Paranüsse (Bertholletia excelsa) darstellenden, ungegliederten Keims dieser Nuß vor. Gute Schnitte sind auch in diesem Fall leicht zu erhalten. Wird zu einem im Wasser liegenden Präparat Alk. abs. hinzugesetzt, so treten die Eiweißkristalle

---

[1]) Nach A. Meyer, Erstes mikroskopisches Praktikum, 3. Aufl., 1915, S. 168, 229.
[2]) Nach E. Overton, Bot. Zentralbl., Bd. XLIV, 1890, S. 5.
[3]) Nach V. A. Poulsen, Rev. gén. de Bot., Bd. II, 1890, S. 547 ff.
[4]) L. Buscalioni, Bot. Zentralbl., Bd. LXXVI, 1898, S. 398—399.
[5]) A. Meyer, Flora, 1899, S. 434.
[6]) Auch Chlorophyll ist u. a. zur Fettfärbung empfohlen worden. Vgl. Reg. IV.

scharf hervor. Das fette Öl wird durch den Alkohol nicht merklich angegriffen. Es bleibt auch unverändert bei Zusatz von Eisessig, während die Eiweißkristalle sich alsbald lösen. In 1-proz. Osmiumsäure werden die Kristalle sehr deutlich. Sie sind so groß, daß sie selbst bei relativ schwacher Vergrößerung ihre Gestalt genau erkennen lassen. Neben dem Kristall liegt ein Globoid, und zwar als unregelmäßiges Aggregat abgerundeter Gebilde. Die Grundsubstanz ist sehr fettreich und wird von der 1-proz. Osmiumsäure allmählich geschwärzt. Auch der körnige Inhalt der Aleuronkörner nimmt bald dunkle Färbung an, während die Kristalle sich nur langsam gelb färben. Die Kristalle sind optisch einachsig, hexagonal rhomboëdrisch-hemiëdrisch.

Hämatoxylinlösungen, mit konzentriertem Glyzerin vermischt, färben die Kristalle sowie die alsdann körnig erscheinende Substanz des Aleuronkorns violett. Sehr scharf tritt der Eiweißkristall auch zu Beginn der Einwirkung in einer kalt gesätt. Lösung von doppeltchromsaurem Kali hervor und schmilzt hierauf rasch von außen nach innen ab, bis er vollkommen schwindet. Das ganze Korn erscheint jetzt als eine Blase, in der das oft phantastisch gestaltete Globoid liegt. — Wir legen auch noch ein Präparat in konz. Kalilauge ein und suchen uns einen gut erhaltenen Kristall in dem Bilde auf. Dann setzen wir einen Tropfen Aq. dest. am Rand des Deckglases hinzu. Dabei können wir die interessante Erscheinung beobachten, daß der Kristall zunächst als Ganzes quillt, ohne merkliche Veränderung seiner Gestalt. Schließlich wird die kristallinische Gestalt aufgegeben, und die gequollene Masse paßt sich der Form des Korns an. — In kochendem Wasser gerinnen die Eiweißkristalle; ihre Gestalt wird dabei zerstört. Konz. Natriumphosphatlösung, ebenso Pikrinsäure, lösen die Kristalle nicht. In 10-proz. Kochsalzlösung werden sie gelöst, in konz. Kochsalzlösung hingegen erst nach vorausgegangener Behandlung mit Alkohol oder mit Äther. In verd. Ätzkalilösung, verd. Salz- oder Essigsäure und konz. Säuren findet ihre Auflösung nicht statt. Durch Jodjodkalium werden sie, wie wir zuvor schon sahen, gefärbt. — Die Globoide lassen sich in kaltem und kochendem Wasser nicht lösen. Leicht lösen sie sich jedoch in allen anorganischen Säuren, ebenso in Pikrin-, Essig- und Weinsäure und in einer ammoniakalischen Lösung von Chlorammonium und Ammoniumphosphat (welch letztere sie zugleich in Kriställchen von phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia umwandelt). In absolutem, mit etwas Schwefelsäure versetztem Alkohol, ferner in einer gesätt. Natriumphosphatlösung geht die Lösung langsamer vonstatten. Durch Jodjodkalium werden sie nicht gefärbt. — Kalziumoxalatkristalle finden sich in Form von Einzelkristallen oder Drusen in den Aleuronkörnern vor. — Die trübe, oft schwach gelbliche, entweder homogene oder etwas körnige Grundsubstanz der Aleuronkörner löst sich in kaltem Wasser gewöhnlich leicht. Nach Behandlung mit Alk. abs. oder 2-proz. Sublimatlösung wird sie widerstandsfähiger. In verd. Kalilauge, in Ammoniak und in gesätt. oder auch verd. Natriumphosphatlösung erfolgt ihre Lösung unter allen Umständen[1]). Die Proteïnkörner der Zerealien lösen sich nach Behandlung mit Alk. abs. nicht in verd. Kalilauge[2]). Sie sollen sich mit Neutralrot bzw. Methylenblau intra vitam färben lassen[3]).

[1]) Vgl. hierzu A. Meyer, Die Grundlagen und die Methoden für die mikrosk. Unters. von Pflanzenpulvern, 1901, S. 31 ff.; S. H. Vines, Proceedings of the Roy. Soc. London, Vol. XXX, 1880, S. 387 ff.; Th. Weyl, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. I, S. 90.

[2]) A. Guilliermond l. c. 1908, S. 200, vgl. auch Reg. IV Aleuron.

[3]) Ebenda.

Um hübsche Dauerpräparate der Eiweißkristalle von Rizinus oder von Bertholletia herzustellen, härten wir die Schnitte zuvor in einer etwa 20-proz. Lösung von einfachem Chlorquecksilber (Sublimat) in Alk. abs.[1]). In dieser haben die Schnitte mindestens 12 Std. zu verweilen. Hierauf übertragen wir sie in Wasser, was sich am besten mit einem feinen Holundermarkstreifen bewerkstelligen läßt, während Stahlinstrumente nicht zu brauchen sind, da sich metallisches Quecksilber auf ihnen niederschlägt und somit auch die Schnitte verunreinigt. Aus dem Wasser kommen die Schnitte in eine wässrige Eosinlösung, in der sie nur kurze Zeit, etwa 15 Min., verweilen dürfen, und werden endlich in einen Tropfen einer halb konz. Lösung von essigsaurem Kali auf den Objektträger gelegt, mit Deckglas überdeckt und, mit Kanadabalsam-Terpentin etwa, verkittet. Das Eosin färbt die Kristalle schön rot[2]), freilich auch gleichzeitig die Zellwände und die Zellsubstanz, gegen welche die Kristalle aber dunkler hervortreten. — Die Eiweißkristalle der Proteïnkörner lassen sich auch mittels einer mit Schwefelsäure versetzten Anthocyanlösung (vgl. Reg. IV) sehr schön färben[3]). Fast unmittelbar tritt bei Triticum vulgare, Zea Mays, Pisum sativum, Vicia Faba, Lupinus albus, Cucurbita Pepo, — nach längerer Einwirkung (12—24 Stunden) bei Ricinus communis und Bertholletia excelsa diese Färbung ein. Es ist dabei gleichgültig, ob die Objekte unmittelbar oder nach Fixierung in die Farblösung getan werden. Bei Bertholletia empfiehlt es sich, zur Entfernung des fetten Öls die tingierten Schnitte in Alk. abs. und dann in Äther oder Azeton zu legen.

Eine fast noch schönere Färbung der Kristalle läßt sich mit Goldchlorid-Ameisensäure erzielen. Die wie zuvor mit 20-proz. Sublimatlösung fixierten Präparate kommen, nachdem sie in Wasser abgespült worden sind, in 1-proz. Goldchloridlösung, in der sie 1—3 Std., gegen Licht geschützt, bleiben. Dann werden sie in 5—7-proz. Ameisensäure übertragen und mehrere Std. lang der Einwirkung des Lichts ausgesetzt. Die Schnitte gelangen hierauf in verd., allmählich in konz. Glyzerin und werden in Glyzerin-Gelatine eingeschlossen. Man kann die Schnitte übrigens auch direkt in alkohol. Goldchlorid-Lösung (1 Tropfen 10-proz. Goldchloridlösung in Wasser auf 20 Tropfen Alk. abs.) fixieren und färben. Die Schnitte bleiben mehrere Std. an einem dunklen Ort, werden hierauf in eine Lösung von 5—10 T. Ameisensäure auf 100 T. 50-proz. Alkohol übertragen und dem Licht ausgesetzt. Die Eiweißkristalle zeigen sich in beiden Fällen rosenrot bis violett gefärbt[4]).

Zum Fixieren von Eiweißkristallen ist konz. alkohol. Sublimatlösung allgemein empfohlen worden. Falls die zu fixierenden Objekte mit einer Kutikula überzogen sind, muß diese entfernt werden, da sie für Sublimat sehr schwer durchdringbar ist. Die Färbung läßt sich dann sehr schön mit 0,2-proz. Säurefuchsinlösung vollziehen, der etwas Kampfer zugesetzt ist. Die Objekte müssen etwa 24 St. darin verweilen. Da bei diesem Verfahren die Chromatophoren sich mitfärben, so muß für den etwaigen Nachweis von Eiweißkristallen in diesen das Verfahren modifiziert

---

1) W. Pfeffer, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. VIII, 1872, S. 441.

2) V. A. Poulsen, Bot. Mikrochemie, franz. Übers., S. 84.

3) Nach O. Gertz, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXXIII, 1916, S. 15.

4) Die Goldchlorid-Tinktionen nach Versuchen von V. Chmielewsky im Bonner botanischen Universitäts-Institut.

werden. Da empfiehlt es sich, die Schnitte nach dem ALTMANNschen Säurefuchsin-Verfahren zu färben. Die Schnitte gelangen in eine Fuchsinlösung, die durch Auflösen von 20 g Säurefuchsin in 100 g Anilinwasser gewonnen wird. Die Lösung wird während der Einwirkung, die 2—5 Min. dauert, erwärmt, dann spült man sie mit Pikrinsäurelösung (1 T. konz. alkohol. Pikrinsäurelösung und 2 T. Wasser) ab. Es ist gut, mit Pikrinsäure zu operieren, die bis auf 40° erwärmt war. Dieses Auswaschen muß so lange fortgesetzt werden, als die Schnitte die Pikrinsäure noch färben. Noch besser sind unter Umständen die Ergebnisse, wenn zum Auswaschen eine Lösung von Kaliumbichromat (2 T. konz. wässr. Lösung mit 98 T. Wasser verdünnt) benutzt wurde. Auch die Kaliumbichromatlösung ist auf 50—60° zu erwärmen. Ist die Entfärbung weit genug fortgeschritten, so muß mit Wasser abgespült und in gewohnter Weise in Kanadabalsam übertragen werden [1]. Zum guten Gelingen der Präparate gehören sehr dünne Schnitte, wie sie nur mit dem Mikrotom zu gewinnen sind, und die dementsprechend vor der Färbung auf dem Objektträger befestigt werden müssen [2].

Wir hatten im Verlauf dieses Abschnittes bereits Gelegenheit, eine Anzahl von Reaktionen auf Eiweißstoffe bzw. Proteïnstoffe kennenzulernen. Da die meisten mikrochemischen Reaktionen der Albuminate diesen nicht allein zukommen, ist stets die Anwendung mehrerer Reaktionen zu ihrem Nachweis notwendig. Der Anwendung der Reagentien sollte, wo es auf sichere Bestimmungen ankommt, die Härtung in Alk. abs. vorausgehen. Dieser entfernt die Harze, Gerbstoffe, ätherischen Öle, das Phlorogluzin, das Chlorophyll und bestimmte andere Farbstoffe, unter Umständen auch die Fette und Alkaloide. Um letztere zu beseitigen, wäre dem Alkohol 5% Weinsäure zuzusetzen, wodurch auch die Gerinnung der Eiweißkörper gefördert wird. Als die empfindlichsten Reaktionen [3] auf Eiweißkörper sind zu betrachten [4]: Jodjodkalium oder wässrige Eosinlösung, das MILLONsche Reagens, Pikrinsäure, die Xanthoproteïnreaktion, Phosphormolybdänsäure, ammoniakalische Nickelsulfatlösung, die Biuretreaktion, Benzaldehyd. Diese Reihenfolge entspricht dem Grade der abnehmenden Empfindlichkeit der Reaktion. — Durch den Alkohol werden aber außer den Eiweißkörpern die Diastase, Kautschuk, Gummiarten, Pektinstoffe, Schleime, Kohlenhydrate, Asparagin, die Fettkörper, organische Säuren, Hesperidin und andere Körper gefällt. Da die fetten Öle und Wachse im kalten Alkohol unlöslich sind, so wäre für ihre Entfernung ein Kochen in Alk. abs. oder ein längerer Aufenthalt in Äther oder Chloroform notwendig. Um die wasserlöslichen Pektinstoffe, Gummiarten, Kohlenhydrate, Diastase und noch andere Körper zu entfernen, hätte einer Härtung in Alkohol ein Kochen in Wasser zu folgen. Wenn dann alle die vorgenannten Reaktionen auf Albuminate positiv ausfallen, läßt sich mit großer Wahrscheinlichkeit auf ihr Vorhandensein schließen.

---

[1]) A. ZIMMERMANN, Die bot. Mikrotechnik, 1892, S. 191 bzw. die 2. Aufl., herausgegeben von H. SCHNEIDER, Jena, 1922, S. 323.

[2]) Vgl. Einleitung S. 76.

[3]) Eine Anzahl können auch zum makroskopischen Nachweis von Eiweiß verwendet werden. Vgl. H. MOLISCH, Zeitschr. f. Bot., VIII. Jahrg., 1916, S. 125, und den XV. Abschn.

[4]) Nach A. DE WÈVRE, Bull. soc. belge de Microsc., Bd. XX, 1893, S. 91 ff. Siehe auch FR. KRASSER, Sitzber. d. Wien. Akad., Bd. XCIV, 1886, Abt. I, S. 118 ff.

Jodjodkaliumlösung bewirkt eine Gelbfärbung der Eiweißstoffe. Die Eosinlösung färbt die Eiweißkörper sehr intensiv; es gilt, für die Reaktion sehr verdünnte, wässrige Lösung anzuwenden. Das MILLONsche Reagens[1]) färbt nicht nur die Eiweißkörper, sondern in ähnlicher Weise auch Gummiarten, die einfach hydroxylierten, aromatischen Körper, aromatische Oxysäuren, Phenole. Zum Nachweis aromatischer Amine und Phenole kann man an Stelle des MILLONschen Reagens die Diazo- oder die Nitritreaktion benutzen[2]). Im ersten Fall bringt man die Schnitte in Uhrgläsern in 10—20-proz. Natriumkarbonatlösung und setzt dann mit Hilfe eines Glasstabes einige Tropfen Diazolösung (s. Reg. IV) zu. Im zweiten Fall bringt man die Schnitte zunächst in 10-proz. Natriumkarbonatlösung, dann längstens eine Min. in 10-proz. Schwefelsäure, endlich in 10—20-proz. Natriumkarbonatlösung. In beiden Fällen wird sich die positive Reaktion in einer verschieden nuancierten Rotfärbung äußern. Die Pikrinsäure färbt Eiweißkörper mit gelber Farbe, ebenso aber auch die Zellhäute. Mit konz. Salpetersäure färben sich die Eiweißkörper unter Bildung von Xanthoproteïnsäure gelb. Neutralisiert man mit Ammoniak, so erhält man Ammoniumxanthoproteïn von noch dunkler gelber Färbung. Auch gewisse Harze und Alkaloide[3]) nehmen mit Salpetersäure gelbe Färbung an. Phosphormolybdänsaures Natron, in Salpetersäure gelöst, bildet ein ebenfalls noch recht empfindliches Reagens. Es wird 1 g phosphormolybdänsaures Natron in 90 ccm Aq. dest. und 5 g konz. Salpetersäure gelöst und nach mehrtägiger Ruhe filtriert. Die Schnitte haben 1—2 Std. in dieser Lösung zu verweilen. Die Eiweißkörper erscheinen körnig und sind gelblich gefärbt. Eine konz. Lösung von schwefelsaurem Nickel in Ammoniak färbt die Proteïnkörper gelb oder blau. Die blaue Färbung geht bei Zusatz von Kalilauge in Orangegelb über. Es ist das die Reaktion von GUEZDA. Die Lösung wird kalt angewandt. Unter Umständen empfiehlt es sich, die Schnitte längere Zeit in ihr verweilen zu lassen oder zu erwärmen. Auch Tannin gibt eine ähnliche Reaktion, doch verändert Kalilauge den Niederschlag nicht; Catechu wird mit brauner Farbe gefällt. Um die Biuret-Reaktion der Eiweißkörper zu erhalten, legt man nicht zu dünne Schnitte in eine ziemlich konz. Lösung von Kupfersulfat, dann führt man sie in Wasser über, wo sie gegen eine Std. verweilen können; schließlich gelangen sie in konz. Kalilauge. Die Eiweißkörper nehmen nun sofort schmutzigrote Färbung an, die durch Erwärmen gesteigert wird. Die Färbung ist aber nicht für alle Albuminate gleich, das Kaseïn und das Fibrin des Weizens und Roggens geben Blauviolett, das Legumin aus Hafer Tiefviolett, aus Erbsen Rotviolett, das Gliadin aus Weizen Tiefviolett, aus Hafer Schwachviolett, das Albumin aus Mais und Vitellin aus Kürbis intensiv Violett, Fibrin aus Mais schwaches Violett, das Legumin aus Vicia Faba Azurviolett. Diese Färbungen widerstehen weder Wasser noch Glyzerin. doch halten sie sich mehrere Std. in Kalilauge. Die Peptone nehmen mit dem Kupferreagens eine purpurrote Färbung an. Um die Benzaldehydreaktion zu zeigen, kommen die Objekte zunächst auf 1—2 Std. in eine alkohol. Lösung von Benzaldehyd, die übrigens nur äußerst geringe Mengen

---

[1]) Dieses Reagens muß, um gut einzuwirken, frisch hergestellt sein, doch genügt es auch, zu einer älteren Lösung, die an Wirksamkeit einbüßte, einige Tropfen Kaliumnitrit-Lösung hinzuzufügen, um ihr die früheren Eigenschaften wiederzugeben.

[2]) M. RACIBORSKI, l. c. 1906.

[3]) Über Alkaloide vgl. auch Reg. IV.

von Benzaldehyd enthalten soll; dann werden sie auf den Objektträger gelegt, leicht mit Fließpapier abgetrocknet und mit 1 oder 2 Tropfen einer Schwefelsäure, die mit gleichem Volumen Wasser verdünnt wurde, und die man mit Spuren von Eisensulfat versetzte, behandelt. Bei Anwesenheit von Eiweißkörpern erfolgt Blaufärbung; die Reaktion wird durch Erwärmen beschleunigt. Unter Umständen ist es nötig, stark zu erwärmen (Reaktion von REICHL und MIKOSCH). Doch färben sich nicht alle Proteïnstoffe in gleicher Weise, so Legumin, Kaseïn, Blutfibrin und Albumin blau, Glutin violett, Pflanzenfibrin gelbbraun, tierisches Fibrin schwach gelb. Außerdem färben sich aber auch andere Körper; so werden blau: Papaïn, Koniferin; violett: Emulsin, Pepsin, Veratrin und Furfurol: gelb oder auch braun: Weizenstärke, Tannin, Olivenöl, Methylamin, Asparagin, Atropin, Bruzin, Morphin, Koffeïn, Papaverin; Pikrotoxin, Vanillin, Arbutin, Oxalsäure, arabisches Gummi und Rohrzucker; Salizin gibt einen ziegelroten Niederschlag, Narzeïn eine rotbraune, Solanin eine schön karminrote Lösung, die später violett wird. Die als RASPAILsche bekannte Eiweißreaktion mit Zuckerlösung und Schwefelsäure gibt Rotfärbung auch bei Öl und auch bei Körpern mit aromatischem Kern. Sie gelingt andererseits nicht mit allen Eiweißkörpern, so z. B. nicht mit Rhodospermin.

Folgende Koagulationsmethode ist neuerdings zum Nachweis von im pflanzlichen Zellsaft gelösten Eiweißstoffen besonders empfohlen worden. Die Eiweißstoffe lassen sich durch Einwirkung von Koffeïn zur Abscheidung bringen, und zwar entstehen dabei glänzende, runde Körperchen von großer, chemischer Veränderlichkeit, sog. Proteosomen, die zu größeren Kugeln verschmelzen können. Der Proteïngehalt dieser Proteosomen läßt sich vor allem an ihrem Verhalten in Hitze (bei 50—56°) oder in verd. Säuren und in 20-proz. Alkohol feststellen, bei deren Einwirkung sie koagulieren[1].

Geht man im besonderen darauf aus, die Zellkerne in den Zellen der ruhenden Samen nachzuweisen[2], so empfiehlt sich eine 24 Std. lange Vorbehandlung der Schnitte mit Alk. abs., wodurch der Inhalt der Zellen einerseits fixiert, andererseits eine Entfettung der ölhaltigen Samen bewirkt wird. Als Färbungsmittel des Zellkerns leistet hierauf in stärkehaltigen Samen besonders DELAFIELDsches Hämatoxylin in klebermehlhaltigen wässr. Methylenblau gute Dienste. Letzteres färbt vor allem das Kernkörperchen und läßt es deutlich hervortreten. Werden die stärkehaltigen Schnitte weiterhin entwässert und mit Nelkenöl aufgehellt, so verschwinden die Stärkekörner fast aus dem Bilde, und der gefärbte Zellkern tritt um so deutlicher hervor. In klebermehlhaltigen Zellen stören die Aleuronkörner sehr, da auch sie Farbstoff aufspeichern; es ist daher angezeigt, sie zu entfernen. Das gelingt bei den schwer löslichen Aleuronkörnern durch 24-stündige Einwirkung einer schwach angesäuerten Lösung von Pepsin-Pankreatin-Glyzerin (einer Mischung von 1 T. Pepsin-Glyzerin, 1 T. Pankreatin-Glyzerin und 20 T. 0,3-proz. Salzsäure) auf die Schnitte; bei den leicht löslichen durch Einwirkung von 0,3-proz. Salzsäure. Gilt es, die Veränderungen zu verfolgen, welche die Zellkerne

[1]) O. LOEW u. TH. BOKORNY, Flora, CI, 1911, S. 113. Über weiteres Verhalten der Proteosomen vgl. noch O. LOEW, Flora, CIX, 1916, S. 61 ff.

[2]) Vgl. W. KOEPPEN, Inaug.-Diss. Jena 1887, S. 7 ff. S. a. dies. Abschn. S. 120.

und das Zytoplasma der Zellen des Samens während der Keimung erfahren[1], so fixiert man ebenfalls mit Alk. abs. oder mit alkohol. Lösungen von Sublimat oder Pikrinsäure. Die Behandlung mit Fuchsin-Methylgrün, welches die Kerne blaugrün, das Zytoplasma rot färbt, gibt auch sehr gute Resultate. Schöne Doppelfärbungen, die sich in Kanadabalsam halten, ergab eine einige Minuten lange Vorbehandlung mit wässr. Safranin- oder Vesuvin-Lösung und darauf folgende Übertragung für eine Minute in Fuchsin-Methylgrün oder in Methylenblau-Safranin. Die Schnitte aus stärkehaltigen Samen müssen unter allen Umständen vor der Beobachtung in einem der gebräuchlichen ätherischen Öle aufgehellt und in diesen oder in Balsam untersucht werden.

---

[1]) M. Raciborski, Anz. d. Akad. d. Wiss. in Krakau, 1893, S. 120; vgl. auch H. S. Reed, Ann. of Bot., Bd. XVIII, 1904, S. 270 und A. Guilliermond, Arch. d'Anat. microsc., Bd. X, 1908, S. 151 ff.

III. Abschnitt.

Protoplasmaströmung. Zellkern. Zeichnen mit der Kamera. Bestimmen der Vergrösserung.

Plasmolyse. Aufnahme von Farbstoffen in die lebende Zelle.

Untersuchungsmaterial.

Frische, im Öffnen begriffene Blüten von Tradescantia virginica oder von einer anderen Tradescantia-Art, oder frische, junge Kürbishaare. Frische Haare aus den Blüten einer Lamium-Art. Zwiebeln von Allium Cepa. Frische rote, blaue, violette und ähnlich gefärbte Blüten. Reife Früchte von Ligustrum vulgare. Kräftige lebende Pflanzen von Hydrocharis morsus ranae oder von Trianea bogotensis. Frische Blätter von Vallisneria spiralis oder Sprosse von Helodea canadensis. Eine lebende Nitella-Art.

Wichtigste Reagentien.

Glyzerin. — Absoluter Alkohol.

Um die Bewegungserscheinungen am lebenden Protoplasma zu beobachten, wählen wir die Staubfadenhaare der Tradescantien aus. Tradescantia virginica blüht vom Mai bis in den Spätherbst und ist in jedem botanischen Garten vertreten. Die langen, violetten Haare der Staubblätter in den Blüten fallen ohne weiteres auf. Man nehme zur Untersuchung im Öffnen begriffene oder frisch geöffnete Blüten. Das Präparat wird hergestellt, indem man ein Büschel Haare mit der Pinzette am Grunde faßt, sie abtrennt und ins Wasser überträgt. Auch ein ganzer Staubfaden läßt sich unter das Deckglas bringen, wenn zuvor die Anthere abgelöst wurde. Zwischen den Haaren pflegt sich Luft einzufangen, und es kostet Mühe, sie zu entfernen. Am besten gelingt das, wenn man über die Haare, die man an ihrer Basis mit der Pinzette festhält, mit einem feinen Pinsel von der Basis gegen die Spitze hinstreicht. Dann erst legt man das Deckglas auf.

Die Staubfadenhaare von Tradescantia werden von zahlreichen, zu einer einzigen Reihe verbundenen, tonnenförmig angeschwollenen Zellen aufgebaut. An den eingeschnürten Stellen befinden sich die Scheidewände, durch welche die aufeinander folgenden Zellen getrennt werden. Jede Zelle (Fig. 76) besitzt einen dünnen, ununterbrochenen Wandbeleg aus Zytoplasma und zeigt sich von zahlreichen dünneren und dickeren Plasmaströmen im Innern durchsetzt. Innerhalb dieser Ströme ist der von einer zusammenhängenden Zytoplasmaschicht umhüllte Kern aufgehängt (etwas unterhalb der Mitte in der Figur 76). Der von den Strömen durchsetzte Saftraum wird von violett gefärbtem Zellsaft erfüllt. Das Zytoplasma erscheint dem

Beobachter als farblose, zähflüssige Substanz, welche zahlreiche winzige Gebilde, die als Mikrosomata oder Mikrosomen bezeichnet werden, führt. Diese Mikrosomen reagieren in verschiedener Weise, z. T. sind sie fest, z. T. bläschenförmig und von einem flüssigen, stark lichtbrechenden Inhalt erfüllt. Außerdem sieht man im Zytoplasma mehr oder weniger zahlreiche, etwas größere, stark lichtbrechende, bläuliche Körner, welche Stärkebildner oder Leukoplasten sind. — Stellen wir das Objektiv auf den zytoplasmatischen Wandbeleg ein, so bemerken wir, daß dieser nicht seiner ganzen Masse nach in Bewegung begriffen ist, wohl aber, daß feine, netzförmig anastomosierende Strömungen in ihm verlaufen. In den Zytoplasmasträngen, welche den Saftraum der Zelle durchsetzen, ist die Bewegung besonders kräftig. Diese Stränge sind von verschiedener Dicke; sie anastomosieren seitlich untereinander und richten sich vorwiegend nach dem Kern. In den meisten Strängen ist nur e i n e Stromrichtung zu erkennen, oft sieht man aber auch, selbst in sehr dünnen Strängen, zwei entgegengesetzt gerichtete Ströme. Die Bewegung wird kenntlich durch die vom Zytoplasma mitgeführten Mikrosomen und Leukoplasten. Bei längerer Betrachtung fällt es auf, daß die Stränge langsam ihre Dicke, ihre Lage und ihre Gestalt verändern. Neue Verbindungszweige sieht man entstehen, ältere in der Mitte dünner werden, endlich durchreißen und sich auf andere Stränge zurückziehen. So verändert sich fortdauernd das Bild. — Der Kern ist oft fast kugelrund, in manchen Fällen oval, oder etwas abgeflacht. Bei der stärksten Vergrößerung, über die wir verfügen, erscheint er uns fein punktiert, und wir können auch wohl einige größere Körner (Kernkörperchen) in ihm unterscheiden. Manchmal liegen zwei Zellkerne in derselben Zelle aneinander. Der Kern wird von den Zytoplasmasträngen hin und her gezogen, er verändert langsam seinen Platz in der Zelle. Um uns hiervon zu überzeugen, führen wir rasch eine Skizze der Zelle aus und vergleichen mit ihr nach einiger Zeit die Stellung des Kerns und der Ströme. Genau läßt sich freilich eine solche Skizze nur mit dem Zeichenapparat entwerfen, und sie nur hätte für den späteren Vergleich entscheidenden Wert. Daher wollen wir es auch gleich versuchen, uns mit dem Gebrauch von Zeichenapparaten bekannt zu machen.

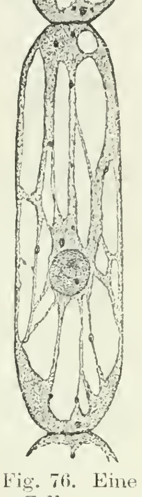


Fig. 76. Eine Zelle aus einem Staubfadenhaar von Tradescantia virginica Vergr. 240.

Der in der Einleitung S. 24 an erster Stelle empfohlene Zeichenapparat von Abbe, der in Fig. 77 dargestellt ist, wird nach Entfernen des Okulars mittels Klemmring über den Tubus gesteckt und mit der seitlich angebrachten Klemmschraube daran befestigt. Das Prismengehäuse samt Spiegel wird hierauf nach hinten umgeklappt (wie in der Figur), so daß man in das unterdessen eingesetzte Okular frei hineinsehen kann. Ist das Bild, das man zeichnen will, eingestellt, so bringt man das Prismengehäuse wieder auf das Okular und blickt nun durch dieses in den Tubus. Wer, wie das meist der Fall ist, mit dem linken Auge mikroskopiert, der muß den Arm mit dem Spiegel soweit nach vorn drehen, daß er ihn nicht stört. Das Bild wird auf

eine horizontale Fläche unter dem Spiegel entworfen. Dort legt man auf ein passendes Zeichenpult ein Blatt gutes, glattes Zeichenpapier und hält über ihm die Spitze eines Bleistifts. Befindet sich die Bleistiftspitze an der richtigen Stelle, so muß man sie zugleich mit dem Bild des Objekts, gleichsam im Gesichtsfeld des Mikroskops sehen. Die Bleistiftspitze wird sichtbar gemacht durch zweimalige Reflexion, das erstemal im Spiegel, das zweitemal an der versilberten Fläche eines kleinen, im Prismengehäuse des Apparats eingeschlossenen Prismas im Augenpunkt des Okulars, während das mikroskopische Bild durch eine kleine Öffnung in der Versilberung desselben Prismas direkt ins Auge gelangt. Liegt die Oberfläche des Zeichenpultes nicht in der deutlichen Sehweite des Beobachters, so wird die Bleistiftspitze undeutlich gesehen und das Zeichenpult muß höher, oder, wohl nur in selteneren Fällen, niedriger gestellt werden. Man kann die erforderliche Höhe zunächst mit Hilfe von aufeinandergelegten Büchern ausprobieren. Will ein Kurz- oder Weitsichtiger in der erwünschten Entfernung der normalen, deutlichen Sehweite, d. h. von 250 mm, nach welcher der Optiker seine Vergrößerung berechnet, zeichnen, so muß er über der oberen Öffnung des Zeichenapparats ein passendes Brillenglas anbringen lassen (vgl. S. 24). Das mikroskopische Bild ist nur dann auf der Zeichenfläche gut sichtbar, wenn zwischen beiden ein bestimmtes Verhältnis der Helligkeit besteht. Ein Abdämpfen der Zeichenfläche kann aber mit Hilfe der Rauchgläser geschehen, die am Zeichenapparat auswechselbar, bei einzelnen Konstruktionen auch drehbar, befestigt sind. Ist die Einstellung vollzogen, so zieht man mit der Bleistiftspitze, gleichsam im Gesichtsfeld des Mikroskop zeichnend, die Umrisse des Gegenstandes nach. Da das Prismengehäuse des Zeichenapparats umgeklappt werden kann, so ist es möglich, ihn am Mikroskop auch während der Beobachtung zu belassen.

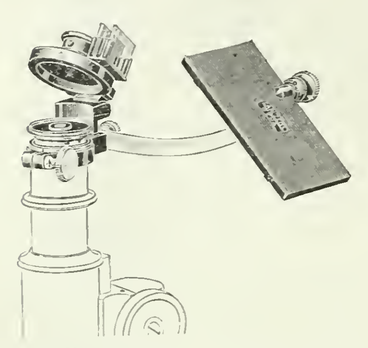


Fig. 77. Kleiner Zeichenapparat nach ABBE (Nr. 12 60 10 bei *Zeiss*). Das Prismengehäuse samt Spiegel ist in dieser Figur nach hinten umgeklappt.

Die zweite in der Einleitung (S. 25) empfohlene Camera lucida (Fig. 78) ist einfacher, leistet trotzdem bei einiger Übung sehr gute Dienste. Ihr Ring (K) wird auf den Tubus geschoben, mit der Schraube (S) festgeklemmt und hierauf das Okular eingesetzt. Diese Kamera kann, da sie sich zur Seite klappen läßt (Fig. 78, links), dauernd am Mikroskop verbleiben, ohne die Beobachtung im geringsten zu stören. Soll sie benutzt werden, so bringt man das durch die gemeinsame Fassung verbundene Prismenpaar über das Okular (Fig. 78, rechts), und zwar so, daß die durch die Öffnung der Fassung sichtbare Prismenkante die Austrittspupille des Mikroskops, d. h. die helle, kreisrunde Scheibe, die man bemerkt, wenn man senkrecht von oben auf das Okular hinabblickt, annähernd halbiert. Sieht man dann, seitlich den Kopf bewegend, die Austrittspupille sich

nicht merklich gegen die Prismenkante verschieben, so steht letztere auch in richtiger Höhe. Man zeichnet auf einem geneigten Zeichenpult, das vor dem Mikroskop aufgestellt wird. Die von der Zeichenfläche abgehenden Lichtstrahlen, die innerhalb des Prismas eine zweimalige Reflexion erfahren, müssen mit den vom Objekt kommenden zusammenfallen. Nach einigem Suchen hat man auf dem Zeichenpapier die Bleistiftspitze gefunden und kann nun mit ihr den Umrissen des Gegenstandes folgen. Soll der Gegenstand in der Zeichnung nicht verzerrt werden, so muß das Zeichenpult die richtige Neigung von 25° haben. Will man diese ganz genau bestimmen, so zeichne man den kreisförmigen Umriß des Gesichtsfeldes mit Hilfe der Kamera auf das Zeichenpapier. Bei richtiger Neigung des Zeichenpultes muß man einen Kreis bekommen; erhält man eine Ellipse, so ist die Neigung des Zeichenpultes unrichtig und muß so lange verändert werden, bis sich ein Kreis ergibt. Oder man stelle, und zwar bei einer der stärkeren Vergrößerungen, das in der Einleitung S. 28 erwähnte, in einen Objektträger eingravierte Objektmikrometer ein. Man drehe das Objektmikrometer so, daß seine Teilstriche nach vorn aufeinander folgen. Falls die zu geringe Größe des Objekttischs eine solche Lage des Objektmikrometers nicht zuläßt, wendet man das Mikroskop um 90°. Das macht natürlich eine entsprechende Änderung der Spiegelstellung notwendig. Ist das Instrument mit einem drehbaren Objekttisch versehen, so braucht man nur diesen zu bewegen, eine Einrichtung, die beim Zeichnen sehr zustatten kommt, da sie es ermöglicht, das Objekt stets in die für die Zeichnung erwünschte Lage zu bringen. Ist das Mikrometer erst richtig orientiert, so trägt man mit Hilfe der Kamera die Teilstriche auf das Papier des Zeichenpultes auf. Sie kommen dort hintereinander zu liegen. Auch ohne große Übung gelingt es, sie genau wiederzugeben, doch folge man an ihnen, da sie eine bestimmte Dicke besitzen, mit dem Bleistift stets derselben Seite. Die Neigung des Zeichenpultes wird richtig sein, wenn die Entfernung der Striche in allen Höhen sich gleich bleibt. Steigt diese Entfernung nach oben zu, so muß das Zeichenpult steiler, sinkt sie, so muß es weniger steil gestellt werden. Da übrigens kleine Fehler im Maßstab nicht ausgeschlossen sind, so ist es notwendig, mehrere seiner Stellen zur Darstellung zu bringen.

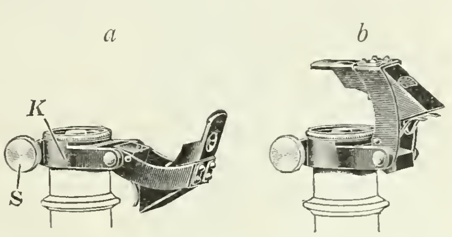


Fig. 78. Zeichenprisma (Camera lucida, *Zeiss* Nr. 12 60 00), *a* zurückgeklappt, das Okular für die allgemeine Betrachtung freigebend; *b* zur Anfertigung einer Zeichnung über das Okular gebracht.

Dasselbe Bild des Objektmikrometers, welches wir auf dem richtig geneigten Zeichenpult entworfen haben, können wir auch verwerten, um die Vergrößerung des gezeichneten Bildes zu bestimmen. Wir wissen, daß die von uns gezeichneten Striche im Objektmikrometer um 0,01 mm auseinander liegen; beträgt nun ihre gegenseitige Entfernung in unserer Zeichnung 2,4 mm, so ergibt sich aus ihr eine 240 malige Vergrößerung. Diese Methode ist die einfachste und beste,

um auch die Größe der mikroskopischen Objekte, die untersucht werden, zu messen. Hat man so viel Sicherheit im Zeichnen erlangt, daß man auch geringe Größenverhältnisse genau wiederzugeben vermag, und kennt man die bei gleicher Entfernung bestimmte Vergrößerung des gezeichneten Bildes, so braucht man nur die Maße mit dem Zirkel abzunehmen und durch diese Vergrößerung zu dividieren, um die wirkliche Größe des Gegenstandes zu erfahren. Erscheint beispielsweise unsere Tradescantia-Haarzelle bei 240 facher Vergrößerung des Bildes 9 mm breit, so beträgt ihre Breite in Wirklichkeit 0,0375 mm. Diese Methode gibt auf einfachstem Wege so genaue Resultate, daß wir uns bei unseren Untersuchungen auf sie beschränken können[1]).

So kehren wir denn zu unserer Haarzelle zurück und versuchen es, mit dem einen oder dem anderen Zeichenapparat[2]) ihr Bild zu entwerfen. Da an dem zweiten Apparat besondere Einrichtungen zur Regulierung der Beleuchtung fehlen, so suchen wir durch Beschattung der Zeichenfläche, eventuell durch Änderung der Spiegelstellung annähernd gleiche Helligkeit für die Zeichenfläche und das Gesichtsfeld des Mikroskops zu erlangen. Zum Zeichnen verwenden wir am besten steifen, glatten Zeichenkarton und Graphitbleistifte[3]). Fertiggestellte Zeichnungen kann man, damit sie sich nicht verwischen, mit sehr verdünnter Gummilösung überziehen oder mit dem in den einschlägigen Geschäften erhältlichen Fixativ überstäuben.

Wir stellen uns somit eine Skizze des Gesamtumrisses der Zytoplasmaströme und des Zellkerns der Haarzelle her und vergleichen etwa nach einer Stunde, ob sich Gegenstand und Bild noch decken. Wir dürften finden, daß die Verteilung der Ströme eine andere geworden ist, und daß auch der Kern seine Lage in der Zelle verändert hat.

Um festzustellen, daß die Strömungsvorgänge benachbarter Zellen voneinander und auch von der Zellwand unabhängig sind, lassen wir eine an sich unschädliche, wasserentziehende Flüssigkeit auf die Haare einwirken. Wir setzen dem Wassertropfen vom Deckglasrand aus konz. Zuckerlösung oder Glyzerin zu. Es dauert nicht lange, so beginnen diese, dem Zellsaft Wasser zu entziehen, und es tritt eine entsprechende Kontraktion der Protoplasten ein. Sie ziehen sich an einzelnen Stellen, doch anscheinend nicht ganz glatt, von der Zellwand zurück, wobei diese, vom Innendruck befreit, entspannt wird. Diese Kontraktion der Protoplasten unter dem Einfluß wasserentziehender Mittel ist als P l a s m o l y s e bezeichnet worden. Dabei ist zu beobachten, daß, so lange die Kontraktion nicht zu stark geworden ist, die Strömung im Zytoplasma auch an den von der Zellwand zurückgetretenen Stellen fortdauert. Bald hört freilich alle Bewegung auf. Doch es gelingt in den meisten Fällen, sie wieder hervorzurufen, wenn die wasserentziehende Flüssigkeit durch Wasser ersetzt wird. Wir fügen zu diesem Zweck dem Deckglasrand von der einen Seite Wasser hinzu, während wir die unter dem Deckglas befindliche Flüssigkeit von der anderen Seite durch Fließpapier aufsaugen lassen

[1]) Wegen anderer Methoden mikroskopischer Maßbestimmung vgl. Einleitung S. 28.
[2]) Vgl. auch Einleitung S. 24 ff.
[3]) Vgl. auch Reg. IV Zeichnen.

(vgl. Fig. 71, S. 110). Der Protoplast pflegt sich dann auch wieder auszudehnen und die Zellhaut zu erreichen. Es passiert nicht selten, daß während der Kontraktion einzelne Zytoplasmastücke sich von dem Zelleib ablösen und als abgerundete Ballen an der Wand der Zelle liegen bleiben. Auch diese Ballen können in den sich vergrößernden Protoplasten wieder aufgenommen werden.

Zu diesen Plasmolysierungsversuchen lassen sich mit besonders günstigem Erfolg auch zahlreiche andere Objekte verwenden: Im Sommer vornehmlich die Oberhautzellen der verschiedenen blau, violett, rot und ähnlich gefärbten Blüten, im Herbst und Winter besonders die locker gelagerten, violetten Zellen aus dem Fruchtfleisch der Ligusterbeere (Ligustrum vulgare) (vgl. Fig. 79 A). Allerdings zeigen diese keine deutlich erkennbare Plasmabewegung. Hat bei ihnen die Plasmolysierungsflüssigkeit genügend lange eingewirkt, so zeigt sich der Protoplast in Form einer Hohlkugel kontrahiert (Fig. 79 B).

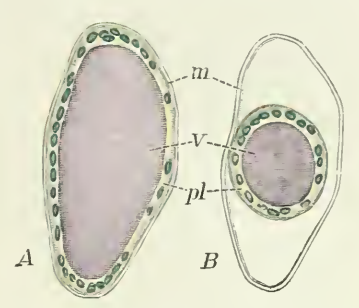


Fig. 79. Zelle aus dem Fruchtfleisch einer Ligusterbeere. *A* normal, *B* plasmolysiert. *m* Zellwand, *v* Vakuole mit farbigem Zellsaft, *pl* Plasma mit Chlorophyllkörnern. Vergr. 240.

Man stellt leicht fest, daß während der eben beobachteten Kontraktion des Protoplasten der Farbstoff nicht nach außen diffundiert, und daß infolgedessen die Färbung des Zellsafts dunkler wird (Fig. 79 B). Anders verhalten sich getötete Zellen. Lassen wir beispielsweise Alk. abs. auf die Haare von Tradescantia einwirken, so tötet dieser sofort das Zytoplasma, welches nun auch Farbstoff aufspeichert. Es entzieht ihn dem Zellsaft, der alsbald sehr hell wird, während sich das Zytoplasma und der Kern dunkel violett färben. Der Farbstoff kann jetzt auch durch die Hautschicht des Protoplasten nach außen treten. — Daß übrigens zahlreiche Anilinfarben auch in das lebende Protoplasma einzudringen vermögen und in seinem Innern sogar aufgespeichert werden können, sei hier nur anhangsweise erwähnt.

Besonders interessant sind die Erscheinungen, die man erzielt, wenn man die Tradescantia-Haare in einen Tropfen 10-proz. Kalisalpeter-Lösung legt und hierauf beobachtet[1]). Zwar werden auch dann die meisten Zellen die gewöhnliche Plasmolyse zeigen, man wird aber öfters auch solche Zellen finden, in welchen nur eine unmerkliche Kontraktion des Plasmaleibes erfolgte, hingegen das mit violettem Zellsaft erfüllte Zellumen sich als selbständiges Gebilde zusammenzog. In solchen Fällen ist das Zellplasma rasch getötet worden mit Ausnahme derjenigen Schicht, welche den Saftraum umgibt. Diese Schicht, eine Hautschicht des Zytoplasmas, weist hierdurch ihre relative Selbständigkeit und größere Widerstandsfähigkeit nach. Der Saftraum bildet schließlich eine oder einige mit dunkelviolettem Zellsaft erfüllte Vakuolen in dem absterbenden Zellplasma. Daß die zytoplasmatische Hautschicht um den Zellsaft lebendig bleibt, erweist sie dadurch, daß sie dem Farbstoff den Durchtritt verwehrt. Hat man

[1]) Vgl. hierzu H. DE VRIES, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XVI, 1885, S. 465.

etwas Eosin der Salpeterlösung zugesetzt, so färben sich alsbald die absterbenden Plasmateile samt Zellkern rot.

Mit Hilfe der Plasmolyse läßt sich der osmotische Druck in einer Zelle bestimmen. Man benutzt dazu Lösungen, deren osmotischer Druck bekannt ist, am häufigsten Salzlösungen, und zwar Lösungen von Kalisalpeter. Man bestimmt die Konzentration der Lösung, die notwendig ist, um die Plasmolyse in den Zellen eben einzuleiten und gewinnt dadurch ein Maß für den osmotischen Turgordruck, der in ihnen herrscht. Zu berücksichtigen ist bei diesen Versuchen, daß der in elastisch gedehnten Zellen herrschende osmotische Druck mit dem Augenblick bereits angegeben wird, wo durch die Einwirkung der umgebenden Lösung die Verkürzung der Zelle beginnt. Eine 1-proz. Lösung von Kalisalpeter zeigt einen Druck von 3,5 Atm. in der Zelle an. Im allgemeinen pflegt in den turgeszenten, pflanzlichen Zellen der Druck nicht unter diesen Wert zu sinken, und muß die isosmotische (isotonische) Kaliumnitratlösung 1,5—3,0% betragen, was einem Druck von 5—11 Atm. entspricht. Will man Rohrzuckerlösungen für die Versuche verwenden, so sind sie in weit höherer Konzentration anzuwenden[1]).

Die Plasmolyse kann auch zu einer Isolierung der Protoplasten benutzt werden. Haben sich die Protoplasten unter dem Einfluß der plasmolysierenden Flüssigkeit allseitig von der Zellwandung zurückgezogen, so zerreißt man das plasmolysierte Gewebe auf dem Objektträger mit Nadeln in kleine Stücke und erreicht auf diese Weise stets den Austritt einiger unversehrter Protoplasten in die umgebende Flüssigkeit, in der sie dann einer weiteren Beobachtung unterzogen werden können[2]).

Bei der Plasmolyse zieht sich nicht nur der plasmatische Zelleib als Ganzes zusammen, es wird vielmehr in zahlreichen Fällen auch das Körnerplasma besonders angegriffen und zu mehr oder minder deutlicher Eigenkontraktion veranlaßt. Dieses eigentümliche Verhalten des Zytoplasmas läßt sich besonders schön an plasmolysierten Zellen der Blätter von Helodea densa und Vallisneria spiralis, aber auch an vielen anderen Objekten, wie den Grundgewebszellen aus jungen Stengelteilen von Tradescantia virginica beobachten[3]). Da zeigt sich nach mehrstündiger Einwirkung der als plasmolysierendes Mittel zu verwendenden $^1/_2$-Normal-Kalziumnitratlösung das Körnerplasma samt Kern und Chromatophoren nach einer Seite hin zusammengezogen; es liegt also nicht allseits der Hautschicht als Belag von gleichmäßiger Dicke auf. In dem angehäuften Körnerplasma ist dann

[1]) Vgl. im übrigen H. DE VRIES, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XIV, 1884, S. 427 ff. W. PFEFFER, Pflanzenphysiologie, 2. Aufl., Bd. I, 1897, S. 121 ff. L. ERRERA, Bull. Acad. Belg. Cl. d. sc., 1901, S. 135 ff. Von neuerer Literatur vgl. W. LEPESCHKIN u. a. in Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXVIa, 1908, S. 198; Beih. z. Bot. Zentralbl., Bd. XXVI, Abt. 1, S. 308. A. TRÖNDLE, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXVII, 1909, S. 71; Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVIII, 1910, S. 171. S. a. O. RENNER, Biol. Zentralbl., Bd. XXXII, 1912, S. 486 ff; ferner K. HECHT, Beitr. z. Biol. d. Pfl., Bd. XI, 1912, S. 137. K. HÖFLER, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXVI, 1918, S. 414 und 423. Denkschr. d. Kais. Akad. d. Wiss., Wien, math.-nat. Kl., Bd. XCV, 1918, S. 99. H. FITTING, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LVI, 1915, S. 1; ferner Ders., Ebenda, Bd. LVII, 1917, S. 553 und Bd. LIX, 1919, S. 1. S. a. C. VAN WISSELINGH, Flora, Bd. CXIII, 1920, S. 359 ff.

[2]) J. AF KLERCKER, Öfvers. af k. Vet. Ak. Förhandl., 1892, N. 9, S. 463; vgl. dazu auch E. KÜSTER, Arch. f. Entwicklungsmech. der Organismen, Bd. XXX, 1910, S. 351.

[3]) E. KÜSTER, Flora, Bd. C, 1910, S. 268 ff.; s. a. Derselbe, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXVI, 1918, S. 283.

sehr schön, durch die Verhältnisse modifiziert, Plasmabewegung zu beobachten[1]).

Statt der Tradescantia virginica läßt sich auch die als Ampelpflanze überall kultivierte Tradescantia zebrina für die Untersuchung der Plasmaströmung verwerten. Namentlich käme sie während des Winterhalbjahres in Betracht. Im Zimmer blüht diese Pflanze selten, kann hierzu aber im Warmhaus angeregt werden. Die Staubfadenhaare verhalten sich im wesentlichen so, wie jene von Tradescantia virginica.

Sollten Tradescantien dem Beobachter nicht zur Verfügung stehen, so könnten andere Pflanzenhaare aushelfen. Ein sehr günstiges Objekt geben die Haare ab, die sich auf den jüngsten Sprossen der Kürbisarten (Cucurbita) befinden. Wir stellen das Präparat her, indem wir diese Haare mit dem Rasiermesser an ihrer Befestigungsstelle ablösen und in den Wassertropfen des Objektträgers übertragen. Die stärkeren Haare sind am Grunde mehrzellig und gehen in eine sich zuspitzende Zellreihe über; einige von ihnen tragen mehrzellige Köpfchen. Das Zytoplasmanetz in den Zellen ist reich entwickelt; es führt Mikrosomen und, wenn auch nur spärlich, größere, grüngefärbte Chlorophyllkörner. Der Zellkern ist groß, in den Zytoplasmafäden aufgehängt; er hat ein glänzendes Kernkörperchen und wird in der Zelle hin und her bewegt.

Ähnliche Strömungsbilder wie die Zellen der Tradescantia-Haare liefern auch jene einzelligen Haare, die in der Blumenkronröhre der Taubnessel- (Lamium) Arten in zwei Reihen stehen. Man wähle eben erst geöffnete Blüten zur Untersuchung aus; die blühende Pflanze ist vom Frühjahr bis zum Spätherbst überall leicht zu beschaffen.

Auch die inneren Epidermiszellen der Zwiebelschuppen von Allium Cepa zeigen, und zwar zu allen Jahreszeiten, sehr schöne Plasmabewegungserscheinungen, die ähnlich wie bei den Staubfadenhaaren von Tradescantia verlaufen[2]).

Ein sehr anziehendes Objekt geben die Wurzelhaare des Froschbisses, Hydrocharis morsus ranae, ab. Man wähle zur Untersuchung junge Wurzeln mit steifen Haaren aus. Diese Haare kann man mit dem bloßen Auge sehen. Es empfiehlt sich, eine ganze Wurzelspitze abzuschneiden und sie rasch in eine hinreichende Wassermenge auf den Objektträger zu übertragen. Das Deckglas wird in gewohnter Weise aufgelegt, und zwar wähle man hierzu die größten Deckgläser, die zur Verfügung stehen. Hierauf wird das Präparat eingestellt, wobei freilich bei der nicht unbedeutenden Dicke der Wurzel nicht alle Stellen der Beobachtung zugänglich sind, weil ein stärker vergrößerndes Objektiv früher schon in Berührung mit dem Deckglas kommt. Die Wurzelhaare von Hydrocharis sind sehr lang, schlauchförmig und, wie auch alle anderen Wurzelhaare, einzellig. Das reichliche Protoplasma, das sie führen, ist in mächtiger Bewegung begriffen. Allein es sind hier nicht zahlreiche, netzförmig verteilte, feine Ströme zu sehen, vielmehr nur ein einziger, kräftiger, in sich zurücklaufender, der Wandung folgender Strom. Diese Art der Strömung wird als Rotation von jener, die wir zuvor beobachtet

[1]) Über Fixierung und Färbung plasmolysierter Zellen vgl. Reg. IV Plasmolyse.
[2]) Vgl. G. Lakon, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXII, 1914, S. 421ff.

haben, der Zirkulation, unterschieden. Der Strom stellt sich uns hier als ein breites, schwach schraubenförmig gedrehtes, in sich zurücklaufendes Band dar, das, in einer Ebene entworfen, eine sehr gestreckte 8 bilden würde. Die Bewegung dürfen wir uns aber nicht etwa so vorstellen, als wenn das Band als zusammenhängendes Ganzes innerhalb der Zelle sich drehte, tatsächlich verändern während der Bewegung die benachbarten Teilchen fortwährend ihre gegenseitige Lage. Die beiden entgegengesetzten Stromrichtungen grenzen nicht unmittelbar aneinander, sie sind vielmehr getrennt durch einen Streifen von Plasma, in dem Ruhe herrscht. Dieser ,,Indifferenzstreifen" ist auf eine sehr dünne Plasmalage reduziert. Auch bei diesem Objekt läßt sich leicht feststellen, daß nach eingetretener Plasmolyse, die hier durch 7½-proz. Rohrzuckerlösung bewirkt werden kann, die Protoplasmaströmung mit wenig veränderter Intensität fortdauert[1]).

Im Winter oder auch zu anderer Jahreszeit, falls Hydrocharis nicht zu beschaffen ist, kann die in den meisten botanischen Gärten kultivierte, südamerikanische Hydrocharidacee, Trianea bogotensis, sie ersetzen. Die Gestalt der Wurzelhaare stimmt mit jener bei Hydrocharis vollständig überein, ebenso auch die Rotation des Protoplasmas in den ausgewachsenen Wurzelhaaren. Die jungen Haarzellen zeigen dagegen lebhafte Zirkulation mit reich verzweigten, vielfach wechselnden Strombahnen. Im allgemeinen bewegen sich da die Ströme in dem Wandbeleg gegen die Spitze des Haares zu, um von dort aus den umgekehrten Weg in Fäden, die den Saftraum durchsetzen, einzuschlagen. Zwischen dieser Zirkulation und der definitiv sich einstellenden Rotation sind alle Übergangsstadien zu beobachten. Das Zytoplasma führt kleine Körnchen, bzw. Bläschen, außerdem in ziemlicher Anzahl größere, stark lichtbrechende, körnige Gebilde, Leukoplasten und Vakuolen verschiedener Größe. Im Zellsaft sind mehr oder weniger sternförmige, kleine Agglomerate von Kalziumoxalat zu sehen, die unter der Einwirkung der Plasmaströmung hin und her getrieben werden.

Sehr instruktive Präparate für Rotation des Protoplasmas liefern die Blätter von Vallisneria spiralis, einer in allen botanischen Gärten vertretenen Pflanze, die sich auch in Zimmeraquarien leicht kultivieren läßt. Man wähle zur Untersuchung ein kräftiges Blatt aus und stelle den Schnitt aus dessen unteren Teilen her. Zu diesem Zweck legt man am besten das lange, schmale Blatt über den Zeigefinger, spannt es mit Daumen und Mittelfinger an beiden Seiten des Zeigefingers an und gewinnt dann den Flächenschnitt, indem man das Messer parallel zur Längsachse des Blattes führt. Man suche eine Lamelle von etwa der halben Blattdicke zu erhalten. Diese Lamelle lege man in den Wassertropfen des Objektträgers mit der Epidermis nach unten. Anhaftende Luft macht einige Stellen des Schnittes unbrauchbar, doch es werden sich immer andere finden, die eine ungestörte Beobachtung zulassen. Eine Strömung ist in den Zellen der unversehrten Pflanze nicht wahrzunehmen[2]), sie wird aber

[1]) E. Overton, Vierteljahrsschr. d. naturf. Ges. Zürich, Bd. XLIV, 1899, S. 103.

[2]) P. Kretzschmar, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXIX, 1903, S. 273. Vgl. dazu N. Gaidukov, Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. XXIV, 1906, S. 155 u. 581, nach dessen ultramikroskopischen Untersuchungsergebnissen sich allgemein Protoplasmaströmung in pflanzlichen Zellen finden soll.

durch Wundreiz, also auch durch Herstellung des der Beobachtung dienenden Schnittes, angeregt. Es dauert eine Zeitlang, bis sich diese Wirkung einstellt, man muß daher etwas warten, um kräftige Strömung in den Schnitten zu sehen. Der Strom läßt sich am besten in den weitlumigen, gestreckten Zellen des Blattinnern verfolgen. Da bei niedriger Zimmertemperatur die Bewegung träge bleibt, hilft man durch schwaches Erwärmen des Objektträgers nach. Das Zytoplasma kreist um die ganze Zelle, meist ohne merkliche seitliche Ablenkung. Der Indifferenzstreifen, in dem die Strömung fehlt, hat ziemliche Breite. Die grüngefärbten Chlorophyllkörner und der Kern treiben mit dem Strom. Der Zellkern ist scheibenförmig abgeflacht. Von Zeit zu Zeit kommt er zum Vorschein, meist ist er von den Chlorophyllkörnern verdeckt. Nicht selten sieht man ihn an einer Zellecke stecken bleiben; dann stauen sich an ihm auch die nachfolgenden Chlorophyllkörner, bis einen Augenblick später alles wieder in die Bewegung hineingerissen wird. Die Strömungsrichtung kann in benachbarten Zellen die entgegengesetzte sein, ohne darin einer bestimmten Regel zu folgen. Läßt man Glyzerin oder Zuckerlösung auf den Schnitt einwirken, so zieht sich der Protoplast von der Zellwand zurück, und man kann im ersten Augenblick dieser Zusammenziehung noch eine Fortdauer der Strömung beobachten. Dabei stellt man bei aufmerksamer Betrachtung fest, daß die äußerste Schicht des Zytoplasmas, seine Hautschicht, an der Bewegung nicht beteiligt ist. Auch in allen anderen Pflanzenzellen, welche Plasmaströmungen in ihrem Inneren zeigen, ruht die Hautschicht, was von der größten physiologischen Tragweite ist, da allem Anschein nach sie es ist, welche die Reize empfängt, die über die Richtung der einzelnen Organe am Pflanzenkörper bestimmen.

An Stelle von Vallisneria spiralis kann mit annähernd gleichem Erfolg die in Europa verwilderte Wasserpest, H e l o d e a c a n a d e n s i s , treten. Die Blätter von Helodea sind so durchscheinend, daß sie ohne weitere Präparation der Beobachtung dienen können. Auch in ihnen, und zwar am schnellsten in den langgestreckten Zellen der Mittelrippe, stellt sich Protoplasmaströmung auffällig erst infolge von Verletzung ein; die Blätter müssen somit vom Sproß abgetrennt werden. Durch Übertragen in 0,005-proz. Schwefelsäure läßt sich bei Helodea innerhalb 1—2 Min. lebhafte Plasmaströmung hervorrufen[1]).

Der mächtigste Plasmastrom, der für Pflanzenzellen bekannt ist, tritt uns bei den Characeen entgegen. Wir müssen aber über die Gattung N i t e l l a verfügen, da die Gattung Chara berindete, meist verkalkte und daher undurchsichtige Internodien besitzt, die Internodien aber gerade besonders geeignet für die Untersuchung sind. Wir wählen jüngere Glieder der Pflanze zur Beobachtung aus und stellen alsbald fest, daß die rotierende Plasmaschicht eine sehr bedeutende Dicke besitzt. Die Hautschicht des Zytoplasmas ist auch hier, wie immer, unbeweglich. Bei Nitella haften die Chlorophyllkörner dieser unbeweglichen Zytoplasmaschicht an, so daß sie, entgegen ihrem Verhalten in den anderen Objekten, sich auch an der Plasmaströmung nicht beteiligen. Ein schräg aufsteigender Streifen an der Wand von Nitella ist frei von Chlorophyllkörnern; er fällt

[1]) Nach G. LAKON, l. c. 1914, S. 425.

durch seine helle Färbung sofort in die Augen. Diesem chlorophylllosen Streifen entspricht der Indifferenzstreifen im Plasmastrom. Die Internodialzellen der Characeen sind vielkernig, der Plasmastrom führt zahlreiche gestreckte Zellkerne, die freilich nur in den günstigsten Fällen als hellere Flecke auffallen. Wir werden uns mit ihnen bei späterer Gelegenheit beschäftigen.

Falls eine länger andauernde Beobachtung der Protoplasmaströmung beabsichtigt wird, darf man die Objekte nicht direkt auf den Objektträger legen und mit Deckglas überdecken, man bringt sie vielmehr in sog. feuchte Kammern, wo sie vor Druck geschützt sind und nicht an Sauerstoffmangel leiden. Solche feuchte Kammern werden auch für Durchleitung von Gasen[1]) und von Elektrizität eingerichtet. Für alle diese Einrichtungen sei auf den XXIII. Abschnitt verwiesen.

Unter sonst normalen Verhältnissen findet Protoplasmaströmung im Dunkeln ebenso wie im Licht statt oder wird dann nur ein wenig verlangsamt. Anders hingegen bei gleichzeitiger Einwirkung von Äther oder Chloroform, wo im Dunkeln ein Stillstand erfolgt, der bei nachfolgender Belichtung wieder durch Strömung abgelöst wird[2]). Dieser Versuch läßt sich in kleinen Glaskammern ausführen, die mit Äther- oder Chloroformwasser bestimmter Konzentration (Ätherwasser $^1/_8$—2 %, Chloroformwasser 0,0025—0,005 %) angefüllt sind. Die Glaskammern stellt man sich her, indem man einen Glasring von etwa 0,5 cm Höhe und 1,5 cm Breite vermittels Paraffin auf einen Objektträger kittet. Eine solche Kammer wird dann zur Hälfte mit der in Betracht kommenden Lösung gefüllt und auf den Glasring ein rundes, gut schließendes Deckglas mit einem Gemisch von Fett und etwas Wachs geklebt. An dieses Deckglas hat man zuvor in einen Hängetropfen der betreffenden Flüssigkeit das Untersuchungsobjekt gebracht. Die Glaskammer wird unter eine Glasglocke über ein Schälchen gelegt, das ca. 100 ccm von Äther- oder Chloroformwasser gleicher Konzentration enthält. Die Glasglocke, die etwa 1 l Inhalt faßt, wird mit ihrem abgeschliffenen unteren Rand mittels eines Gemisches von Wachs und Fett auf eine geschliffene Glasplatte dicht aufgesetzt. Auf diese Weise behält die Luft und auch das Wasser um die betreffenden Objekte herum stets dieselbe Menge Äther- bzw. Chloroformdampf. Will man die betreffenden Objekte in der Glaskammer einige Zeit lang verdunkeln, so stülpt man einen Dunkelzylinder aus schwarzer Pappe über die Glasglocke, in der sich die Glaskammer befindet.

Um die Wirkung farbigen Lichts auf die Protoplasmaströmung zu studieren, bediente man sich einer Dunkelkammer, die dem Objekttisch des Mikroskops aufgesetzt wurde und alles Licht, mit Ausnahme

---

[1]) E. Josing, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXVI, 1901, S. 197 ff.

[2]) Weitere Angaben darüber bei J. Demoor, Arch. de Biologie, T. XIII, 1894, Sond.-Abz. S. 14; P. Samassa, Verh. d. nat. med. Ver. zu Heidelberg, N. F., Bd. VI, 1. Heft, 1898; G. Lopriore, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXVIII, 1895, S. 531; W. Kühne, Zeitschr. f. Biol., Bd. XXXV, 1897 und XXXVI, 1898; G. Ritter, Flora, Bd. LXXXVI, 1899, S. 353; A. J. Ewart, Proc. Roy. Soc., Bd. LXIX, 1902, S. 466; Ders., Oxford, Clarendon Press. 1903; P. Jensen, Anat. Hefte, Bd. XXVII, 1905, S. 829 ff.; K. C. Schneider, Plasmastruktur u. Bewegung bei Protozoen u. Pflanzenzellen, Wien, 1905; H. Stübel, Zeitschr. f. allgem. Phys., Bd. VIII, 1908, S. 267; W. Bierberg, Flora, Bd. IC, 1909, S. 52. Vgl. dazu auch H. Nothmann-Zuckerkandl, Biochem. Zeitschr., Bd. XLV, 1912, S. 412, u. L. Lauterbach, Beih. z. bot. Zentralbl., 1. Abt., Bd. XXXVIII, 1921, S. 1ff.

des vom Mikroskopspiegel reflektierten, vom Präparat abhielt. Borscow[1]) hatte diese Kammern aus Pappe hergestellt, mit schwarzem Stoff inwendig ausgekleidet und durch diesen auch mit dem Tubus des Mikroskops verbunden. Chr. Luerssen[2]) benutzte einen von N. Pringsheim vorgeschlagenen Dunkelkasten von Messingblech, „Pringsheim-Dunkelkammer", die ebenfalls dem Objekttisch aufgesetzt wurde und eine obere, mit Kautschukring umgebene Öffnung zur Aufnahme des Tubus besaß. An dieser Dunkelkammer angebrachte Mikrometerschrauben ließen eine Verschiebung des Objektträgers zu. Das zum Mikroskopspiegel gelangende Licht passierte farbige Gläser oder in parallelwandigen Behältern eingeschlossene, spektroskopisch auf ihre Durchlässigkeit geprüfte Flüssigkeiten[3]). J. Reinke[4]) erreichte dasselbe Ziel durch Anwendung farbiger Objektträger in der Dunkelkammer, konnte auch, durch entsprechende Zusammenfügung von farbigen Gläsern, gleichzeitig einzelne Teile desselben Präparats einem Licht von verschiedener Farbe aussetzen[5]).

Wie durch intensive Belichtung z. B. in den Blättern von unverletzten Helodea-Sprossen Plasmaströmung hervorgerufen werden kann, gelingt das auch nach Erwärmung, jedoch nur dann, wenn ein Temperaturgefälle durch lokales Erwärmen eines einzelnen Blattes hergestellt wird. Um ein solches zu erreichen, legt man auf eins der Blätter eines gesunden, auf dem Objektträger unter dem Mikroskop liegenden Helodea-Sprosses eine Kapillare, durch die aus einem gegen Wärme isolierten Gefäß ein ständiger Strom von 40° warmen Wassers geht. Nach wenigen Minuten läßt sich dann in den erwärmten Blatteilen bald immer intensiver werdende Plasmaströmung beobachten, die sich allmählich auch in den benachbarten Teilen und Blättern einstellt, während die entfernteren Blätter keine Strömung aufweisen[6]).

Nicht zu verwechseln mit den Zellkernen sind die runden Kugeln, die man in größerer oder geringerer Anzahl in dem Plasmastrom der Characeen treiben sieht. Letztere erscheinen entweder glatt oder zeigen eine stachlige Oberfläche; man hat sie als Stachelkugeln bezeichnet. Diese Kugeln werden bei ihrer Vorwärtsbewegung gleichzeitig um ihre Achse gedreht, was daher rührt, daß die Schnelligkeit des Stroms an der ruhenden, chlorophyllhaltigen äußeren Plasmaschicht am größten ist und gegen das Zellumen allmählich abnimmt. Legt man Nitellen (etwa Nitella syncarpa) in äußerst verdünnte Methylenblaulösung, so haben nach mehreren Stunden, eventuell auch erst nach Ablauf eines Tages, die Stachelkugeln Methylenblau aufgenommen und sich schön blau gefärbt. Da nun der Strom ungestört weiter anhält, so werden jetzt die blauen Kugeln in ihm fortgetrieben, was ein sehr instruktives Bild darbietet[7]).

Solche Anilinfarben, die aus hinreichend diluierten Lösungen ohne Schädigung von lebendigen Zellen aufgenommen und gespeichert

[1]) Mélanges biol. Bull. de l'Acad. d. Sc. St. Pétersbourg, T. VI, 1867, S. 315.
[2]) Inaug.-Diss., Jena 1868, S. 9.
[3]) Über ähnliche Versuchseinrichtungen vgl. M. Nothmann-Zuckerkandl, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXIII, 1915, S. 304.
[4]) Bot. Ztg., XXIX. Jahrg., 1871, Sp. 792.
[5]) Vgl. auch Reg. IV Lichtfilter nach Kniep, Meinhold u. a., bzw. Mikrospektralobjektiv.
[6]) Nach H. Nothmann-Zuckerkandl, l. c., 1915, S. 312.
[7]) E. Overton, Bot. Zentralbl., Bd. XLIV, 1890, S. 6.

werden, sind geeignet, Licht über die Stoffaufnahme und -abgabe zu Ernährungszwecken, die Stoffwanderung und den Stoffaustausch zu verbreiten[1]); außerdem zieht die Mikrochemie und die mikroskopische Technik aus diesem Verhalten Vorteil. Der aufgenommene Farbstoff bleibt entweder in der Zelle, oder es tritt in umgebendem reinem Wasser allmählich wieder Entfärbung ein[2]). Eine solche ist durch verd. Säuren, am besten durch Zitronensäure, jederzeit zu erreichen. Es ist aber fraglich, ob die Säure das Plasma unbeschädigt läßt[3]).

Die Speicherung beruht darauf, daß der eingedrungene Farbstoff mit irgendwelchen Stoffen des Zellsafts (sehr häufig Gerbsäure) zu nicht diffusiblen Verbindungen umgesetzt wird, worauf dann ein weiteres Eindringen von Farbstoff stattfinden kann. Besonders schöne und rasche Intravitalfärbungen erhält man nach W. Ruhland[1]) mit der schwer wasserlöslichen Neutralrotbase, die man in ziemlich stabiler, übersättigter Lösung erhält, wenn man der verd. Lösung des käuflichen Neutralrots (Hydrochlorid) in Aq. dest. Spuren von Alkali zufügt. Diese Lösung wird nur sehr wenig von der Zellmembran gespeichert und dringt deshalb schneller als die salzartigen Farbstoffe ein. Als geeignete Objekte kommen die Epidermis von Allium Cepa, Spirogyren u. a. in Betracht. — Fast alle basischen Anilinstoffe werden nach den Untersuchungen von Pfeffer[5]), Overton[6]) und Ruhland[7]) von den verschiedensten pflanzlichen Zellen aufgenommen, und zwar meist sehr schnell. Im allgemeinen n i c h t aufgenommen werden unter den basischen Farbstoffen nur das Nachtblau (Diphenylnaphtylmethanfarbstoff), Gallaminblau, Basler Blau R. und B. B., Victoriablau B. und 4 R., vor allem nicht die meisten Säurefarbstoffe. Die von Overton aufgestellte Regel, nach der nur solche Farbstoffe in die Zelle eindringen, die in fettartigen Stoffen („Lipoïden") löslich sind, mit welchen nach ihm die Plasmahaut imprägniert ist, hat sich nicht bewahrheitet, da es nach Ruhland[8]) lipoïdunlösliche Farbstoffe gibt, die besonders leicht in die lebende Zelle aufgenommen werden (Malachitgrün, Thionin, Methylengrün usw.), und andererseits lipoïdlösliche Farbstoffe (Nachtblau, Echtrot, Oxamin marron usw.), die nicht oder nur sehr langsam (Rhodamin) eindringen.

Wie Versuche mit Pflanzenteilen lehren, die man mit der Schnittfläche in Farblösungen taucht, dringen diese Lösungen von den Leitungsbahnen her in die benachbarten lebenden Zellen ein, wobei sich herausstellt, daß zahlreiche saure Farbstoffe, die bisher als „nichtvital" galten, doch vital

[1]) Vgl. W. Pfeffer, Unters. a. d. bot. Institut in Tübingen, Bd. II, 1886, S. 179.

[2]) Über Fixierung von Vitalfärbungen vgl. Reg. IV Lebendfärbung.

[3]) W. Brenner, Ofversigt Finska vetensk. Förhandl., Bd. LX, 1917/18, Afd. A, Nr. 4.

[4]) W. Ruhland, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVI, 1908, S. 1.

[5]) W. Pfeffer, l. c., 1886.

[6]) E. Overton, l. c., 1890 u. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXIV, 1900, S. 670 ff.

[7]) W. Ruhland, l. c., 1908; Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXVIa, 1908, S. 772, und Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LI, 1912, S. 378 ff.; s. a. Ders. in Abderhaldens Handb. d. biol. Arbeitsmethoden, Abt. XI, 2, 1922.

[8]) W. Ruhland, l. c., 1908; s. a. Ders. in Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LI, 1912, S. 376; Ebenda, Bd. LIV, 1914, S. 391 und Biochem. Zeitschr., Bd. LIV, 1913, S. 59; Biol. Zentralbl., Bd. XXXIII, 1913, S. 337 und die Literaturzusammenstellung in der Zeitschr. f. Chemie und Industr. d. Kolloide, Bd. XII, 1913, S. 113. Vgl. a. R. Collander, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LX, 1921, S. 354 ff., und den zusammenfassenden Bericht von A. Dorner im Zentralbl. f. Bakteriol. etc., 2. Abt., Bd. LVI, 1922, S. 27 ff.

aufgenommen werden können[1]). Deutliche, z. T. sehr starke Vitalfärbungen lassen sich namentlich mit Fuchsin S., Coccinin, Ponceau P. R., Ponceau R., Bordeaux R., Echtrot B., Orange G., Methylorange, Guineagrün, Lichtgrün F. S., Naphthalingrün, Setopalin, auch mit Indigkarmin, sowie mit fluoreszierenden Farben wie Eosin und Erythrosin (Versuche im Dunkelschrank) erzielen. Vergleichsversuche mit verschiedenen Farbstoffen weisen darauf hin, daß es die Farben sind, deren Kolloïdität gering ist, welche die Pflanzenzellen vital färben, während mittelmäßig oder stark kolloïdale Farben schwach oder gar nicht färben.

Bei dem Versuch, mehrere Farben, z. B. Methylenblau und Neutralrot, zu gleicher Zeit auf die lebenden Zellen einwirken zu lassen, erhielt man keine Mischfarben; die Granula der Zellen des Versuchsobjekts nahmen vielmehr je nach ihrer Art den einen oder den anderen Farbstoff auf[2]). Ob die Granula aber als lebende Bestandteile der Zelle aufzufassen sind, erscheint fraglich. Die im pflanzlichen Zellsaft erhaltenen Farbniederschläge sind es natürlich nicht. Eine andere Frage ist die, ob der Kern sich intra vitam färbt, oder dies stets ein Zeichen des Todes ist[3]).

---

[1]) E. Küster, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. L, 1911, S. 261; Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXXV, 1918, S. 95.

[2]) P. Ehrlich-A. Lazarus, Anaemie, 1. Abt., Wien 1898, S. 85; G. Loisel, Journ. Anat. Phys., 34. Anée, 1898, S. 219. W. v. Möllendorff, Anatom. Hefte, herausg. von Merkel u. Bonnet, Heft 159, Bd. LIII, 1915.

[3]) Eine Zusammenstellung der Angaben darüber findet sich bei A. Meyer, Morphologische und physiologische Analyse der Zelle der Pflanzen und Tiere, I. Teil, Jena 1920, S. 473 ff., bes. S. 479.

IV. Abschnitt.

Chromatophoren. Farbiger Zellsaft.

Fettkörper (Elaioplasten).

Untersuchungsmaterial.

Frische Moospflänzchen: Eine Mnium-Art oder Funaria hygrometrica. Farnprothallien. Blüten von Tropaeolum majus. Blüten von Strelitzia Reginae. Mohrrübe. Blüten von Verbascum nigrum. Blüten von Vinca major oder minor. Blüten einer roten Rose. Blüten von Delphinium consolida. Blutfarbige Laubblätter, auch Blätter von Rotkohl. Herbstlich rote Blätter von Parthenocissus quinquefolia. Herbstlich gelbe Blätter von Ginkgo biloba oder von Ahornarten. Scheinknollen von Phajus grandifolius. Rhizom von Iris germanica. Stengel von Pellionia Daveauana.

Hagebutten oder Früchte von Crataegus coccinea oder von Asparagus officinalis oder von Lycopersicum esculentum. Blüten von Doronicum oder einer gelbblühenden Chrysanthemum-Art. Blüten von Antirrhinum majus. Blüten von Adonis flammeus oder rotblühende Aloëarten. Früchte von Solanum nigrum. Blüten von Ornithogalum oder Gagea oder von Funkia coerulea oder Blätter von Vanilla planifolia.

Wichtigste Untersuchungsflüssigkeiten, Reagentien.

Jodjodkaliumlösung. — Chloralhydrat. — 5-proz. Zuckerlösung, eventuell eine gesätt. Lösung von Pikrinsäure, auch von Sublimat in Alk. abs. und eine 2-proz. Säurefuchsinlösung in Aq. dest.

Wir hatten bereits Gelegenheit, an mehreren Objekten einen Einblick in den Bau und in die Einschlüsse der Chlorophyllkörner (Chloroplasten) zu gewinnen: immerhin wollen wir noch einmal diesen Gebilden unsere besondere Aufmerksamkeit zuwenden. Wir wählen zu diesem Zweck eins jener Moose aus, die sich durch schöne, große, linsenförmige Chloroplasten auszeichnen, und deren (von der Mittelrippe abgesehen) einschichtige Blätter sich ohne weitere Präparation untersuchen lassen. Zu empfehlen sind Sternmoos (Mnium)-Arten oder das Drehmoos, Funaria hygrometrica. Zahlreiche Chlorophyllkörner von ansehnlicher Größe sind in jeder Blattzelle zu sehen; sie liegen in Pflänzchen, die dem diffusen Tageslicht ausgesetzt waren, fast nur den freien Zellwänden, d. h. jenen Wänden an, welche die obere und die untere Fläche des Blattes bilden. Hierbei kehren sie dem Beobachter ihre breite Seite zu. Daß sie im Profil aber schmäler sind, erkennt man an den vereinzelten Körnern, die sich an den Seitenwänden befinden. Alle Teilungsstadien der Chloroplasten lassen sich leicht, oft in ein und derselben Zelle, auffinden (Fig. 80). Die ruhenden Körner erscheinen fast kreisrund, dann nehmen sie elliptische, hierauf bisquitförmige Gestalt an, endlich werden sie vollständig durchgeschnürt. Die beiden jungen Körner bleiben eine Zeitlang in

gegenseitiger Berührung. Die Stärkeeinschlüsse der Chlorophyllkörner sind, je nach ihrer Größe, in manchen Blättern leicht, in anderen nur schwer zu sehen. Stets aber treten sie deutlich hervor, wenn die Chlorophyllkörner aus einer geöffneten Zelle in das umgebende Wasser gelangen und sich dort zersetzen. Um das zu erreichen, schneiden wir ein Blatt mit einer Schere in kleine Stücke, die wir in den Beobachtungstropfen legen. Die aus den zersetzten Chlorophyllkörnern befreiten Stärkekörner nehmen in dem umgebenden Wasser an Größe zu und sind mit Jod als solche nachweisbar. Dahingegen wird ein ganzes, unversehrtes Chlorophyllkorn mit Jodjodkaliumlösung braun gefärbt, und zwar infolge der gleichzeitigen Blaufärbung der Stärkeeinschlüsse, der gelbbraunen Färbung der protoplasmatischen Grundsubstanz und der grünen des Chlorophylls. Um günstige Jodfärbungen des unversehrten Korns zu bekommen, nehmen wir Blätter in Untersuchung, die längere Zeit in Alkohol gelegen haben, denen somit durch diesen der grüne Farbstoff entzogen wurde. Die Chloroplasten erscheinen nunmehr farblos; ihre Stärkeeinschlüsse nehmen, bei allmählichem Zutritt der Jodlösung, früher als der protoplasmatische Körper die ihnen zukommende Färbung an. Die Jodreaktion wird noch auffallender, wenn das Präparat zuvor mit Kalilauge, welche die Stärkekörner zur Quellung brachte, behandelt worden ist. Diese Methode gestattet es auch, die geringsten Mengen von Stärke in den Chlorophyllkörnern nachzuweisen. Das gelingt fast sicherer noch mit frischen Körnern, die man mit einer Lösung von 5 T. Chloralhydrat in 2 T. Wasser, der man auf dem Objektträger etwas Jodtinktur zusetzt, behandelt. Nach wenigen Minuten ist das Blatt farblos, die Chlorophyllkörner und Stärkekörner quellen, und letztere treten mit blauer Farbe deutlich hervor. Auch die mit Alkohol entfärbten Blätter zeigen bei der gleichen Behandlung sehr schön die blau tingierten Stärkekörner in den Chlorophyllkörnern, während diese sich nicht färben.

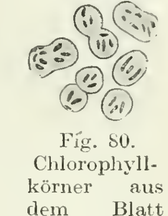


Fig. 80. Chlorophyllkörner aus dem Blatt von Funaria hygrometrica, ruhend und in Teilung. Vergr. 540.

Die außerdem in Vorschlag gebrachte Reaktion auf Stärke mit Javellescher Lauge (Eau de Javelle)[1] ist bei den von uns untersuchten Laubmoosen nicht anwendbar, da die Stärkekörner zugleich mit den Chlorophyllkörnern gelöst werden. In anderen Fällen, wo die Stärkekörner widerstandsfähiger sind, leistet diese Reaktion gute Dienste. Je nach der Empfindlichkeit des Objekts hat die Einwirkung der Javelleschen Lauge alsdann kürzere oder längere Zeit (1—24 Std.) zu dauern. Ist der Inhalt der Zelle bis auf die Stärkekörner gelöst, so überträgt man die Präparate in Jodlösung, und die Färbung der Stärke erfolgt. So gelingt es oft, noch sehr geringe Mengen von Stärke in den Zellen nachzuweisen. Ein Aufkochen der Präparate in Wasser, wo die Stärke aufquillt, ist in manchen Fällen vor der Jodbehandlung zu empfehlen. Allzulange darf die Einwirkung der Javelleschen Lauge nicht dauern, da die Stärke schließlich doch gelöst wird. Vielfach halten die Stärkekörner aber auch tagelang die Wirkung der Javelleschen Lauge aus.

---

[1]) E. Heinricher, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. III, 1886, S. 213.

Bei starker Vergrößerung erscheinen die lebenden Chlorophyllkörner des Funaria-Blattes fein porös[1]. Diese Struktur tritt an den Chlorophyllkörnern mancher anderer Pflanzen, so von Vallisneria, einigen Orchideen (wie Phajus, Acanthephippium) und Crassulaceen, auch Sempervivum-Arten, noch deutlicher hervor; sehr gut sieht man sie an den so häufig kultivierten Crassulaceen der Gattung Echeveria. Man schneidet zunächst mit dem Rasiermesser die äußersten Schichten der Blattunterseite bei jenen Pflanzen ab und untersucht den nächstfolgenden, lockeres Blattgewebe enthaltenden Schnitt in Wasser. In den unversehrten Zellen des Schnittes zeigen sich die großen Chlorophyllkörner im Besitz von regelmäßig verteilten, grünen Körnern, die als Grana bezeichnet werden; diese Körner können als Vakuolen gelten, die stark lichtbrechende, gefärbte Substanz enthalten. In den sich im Wasser zersetzenden Chlorophyllkörnern erscheinen die Grana gequollen, z. T. gestreckt; einzelne stäbchenförmige Stärkekörner kommen gleichzeitig zum Vorschein. Man kann diese auch hier leicht innerhalb der frischen Chlorophyllkörner mit Jod-Chloralhydrat nachweisen[2].

Wir halten es für angezeigt, auch einige physiologische Versuche mit Mnium hornum oder Funaria hygrometrica anzustellen, weil das Ergebnis dieser Versuche leicht unter dem Mikroskop beobachtet werden kann. Der Zellinhalt dieser Pflanzen reagiert sehr rasch auf Lichtreize und läßt die Reaktion an der veränderten Lage seiner Chlorophyllkörner gut erkennen[3]. An Pflanzen, die längere Zeit dem diffusen Tageslicht ausgesetzt waren, fanden wir die Chlorophyllkörner an der oberen und unteren Fläche der Blattzellen angesammelt. Bringen wir die betreffenden Pflanzen in einen dunklen Raum, so wird meist schon nach wenigen Stunden, manchmal selbst nach einer Stunde, die Lage der Chlorophyllkörner sich verändert haben. Wir finden sie an den Seitenwänden der Zellen angesammelt; die oberen und die unteren Zellwände erscheinen dabei leer. Die erste Stellung wird als Epistrophe, die zweite als Apostrophe bezeichnet. Die Epistrophe fällt mit der Tagstellung, die Apostrophe mit der Nachtstellung zusammen. Werden die verdunkelten Pflanzen wieder dem diffusen Tageslicht ausgesetzt, so haben die Chlorophyllkörner oft nach weniger als einer Stunde die Tagesstellung wieder erlangt. In dieser Stellung wenden sie ihre breiten Seiten der Lichtquelle zu und befinden sich so in besonders günstigen Bedingungen für die Assimilation. Werden hingegen kräftige Rasen von Funaria dem direkten Sonnenlicht und zwar, um eine zu starke Temperaturerhöhug zu vermeiden, unter einer Wasserschicht ausgesetzt, so ziehen sich in den senkrecht vom Sonnenlicht getroffenen Zellen die Chlorophyllkörner an die Seitenwände zurück. Auf ihrer Wanderung dorthin halten sie ein und kehren sofort in ihre frühere Lage zurück, wenn

---

[1]) Vgl. N. PRINGSHEIM, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XII, 1879—81, S. 313; F. SCHMITZ, Die Chromatophoren der Algen, 1882, S. 29; A. MEYER, Das Chlorophyllkorn, 1883, S. 25; A. TSCHIRSCH, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. I, 1882, S. 202; A. F. W. SCHIMPER, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XVI, 1885, S. 59 u. 147.

[2]) Ob, wie das für verschiedene Pflanzen angegeben wurde (vgl. J. H. PRISTLEY und A. A. IRVING, Ann. of Bot., Bd. XXI, 1907, S. 407), die Grana allgemein nur in den peripheren Teilen der Chlorophyllkörner lokalisiert sind, müssen weitere Untersuchungen lehren.

[3]) Vgl. hierzu E. STAHL, Bot. Ztg., Jahrg. XXXVIII, 1880, Sp. 321; A. F. W. SCHIMPER, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XVI, 1885, S. 210. Dort die übrige Literatur, vornehmlich die älteren Arbeiten von FAMINTZIN, BORODIN und FRANK.

das intensive Licht plötzlich durch optimal-diffuses ersetzt wird[1]. In ähnlicher Weise, wie auf Unterschiede der Lichtintensität, reagiert der Chlorophyllapparat auch noch auf andere Reize. Zerschneiden der Blätter, vollständiges Trockenwerden rufen Apostrophe hervor. Bei der Einwirkung des Lichts macht sich aber außerdem noch ein spezifischer Einfluß des Strahlengangs geltend. Wird nämlich ein Funaria-Rasen unter einen undurchsichtigen, inwendig geschwärzten Pappkasten gestellt, der nur an der dem Fenster zugekehrten Seite einen schmalen, horizontalen Spalt besitzt, so daß die Blätter nur seitlich einfallendes Licht erhalten, so beeinflußt dieses in ganz bestimmter Weise die Lage der Chlorophyllkörner. In Blättern, die der Länge nach vom Licht gestreift wurden, finden wir, namentlich in den dem Blattrand näheren Zellen, die Chlorophyllkörner an den der Lichtquelle zugekehrten und den von ihr abgekehrten Wänden angesammelt. Ganz besonders interessant ist es auch noch, Blätter von Funaria unter dem Mikroskop der Einwirkung des direkten Sonnenlichts auszusetzen. Man wählt zu diesem Versuch Blätter von Pflanzen, die im diffusen Tageslicht verweilt haben, und zwar solche Zellen derselben, die ihre Außenflächen dicht mit Chlorophyllkörnern bedeckt zeigen. So dichtgedrängte Chlorophyllkörner erscheinen polygonal, nur durch schmale, farblose Streifen voneinander getrennt. Werden die Zellen dem direkten Sonnenlicht ausgesetzt, so ziehen die Chlorophyllkörner schon nach wenigen Minuten ihre Ecken ein und werden rundlich oder oval. Sie haben das Bestreben, eine geringere Oberfläche dem zu intensiven Licht zu bieten, und verkleinern so ihren Breitendurchmesser etwa um ein Drittel. Erst später beginnt die Umlagerung der Körner nach den Seitenwänden. — Bei ausdauernden Blättern sammeln sich die Chloroplasten der Palisadenzellen an deren nach dem Blattinnern zu gerichteten Grunde an[2]. Die Gestaltveränderung der Chlorophyllkörner stellt eine Eigenbewegung dar, während bei den Lagenänderungen die Chlorophyllkörner jedenfalls durch das farblose Plasma, das den Wandbeleg der Zelle bildet, und in dem sie eingebettet liegen, oder bestimmter wohl kinoplasmatischer Strukturen desselben, durch die sie miteinander und mit dem Zellkern verbunden sind, geführt werden[3]. — Den hier beobachteten ähnliche Erscheinungen finden sich auch bei vielen anderen Pflanzen.

Dieselben Ergebnisse wie mit den meisten Moosblättern erhält man mit Farnprothallien, so daß sich diese Objekte gegenseitig vertreten können. Prothallien sind wohl stets in Gewächshäusern, in denen Farne kultiviert werden, zu finden; die Wahl der Spezies ist für diese Untersuchung gleichgültig.

---

[1]) G. Senn, Zeitschr. f. Bot., XI. Jahrg., 1919, S. 95.

[2]) Ders., Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXVII, 1909, S. (13).

[3]) Vgl. bes. G. Senn, Die Gestalt und Lageveränderung der Pflanzenchromatophoren. Leipzig 1908; ferner Ders. in Zeitschr. f. Bot., Bd. I, 1909, S. 592 und Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXVII, 1909, S. (12). — Bengt Lidforss, Lunds Univ. Årsskr., N. F., Afd. 2, Bd. IV, Nr. 1. Fr. Knoll, Sitzber. K. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl., Bd. CXVII, 1908, Abt. I, S. 1227. K. Linsbauer und E. Abranowicz, Ebenda, 1909, S. 137. E. Küster, Flora, Bd. C, 1910, S. 267, s. a. Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXIX, 1911, S. 362. Arthur Meyer, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XL, 1922, S. 161. Vgl. dazu K. Boresch, Zeitschr. f. Bot., Bd. XVI, 1914, S. 138ff., der sich gegen einen ursächlichen Zusammenhang zwischen dem Verhalten der fädigen Plasmastrukturen und der Chloroplastenbewegung ausspricht. Über entspr. Fixierungs- und Färbemittel vgl. auch Reg. IV Kinoplasma.

Als Fixierungsmittel für Chloroplasten bewährte sich Sublimat-Pikrinsäure und zwar wässr. gesätt. Lösungen von Sublimat und Pikrinsäure zu gleichen Teilen gemischt. Hierin haben die Objekte 12—24 Stunden oder noch länger zu verbleiben, worauf sie mit Wasser ausgewaschen und in Alkohol steigender Konzentration bis zu 75% übertragen werden. Die Färbung der Handschnitte geschieht am besten mit „Säurefuchsin B". Vor der Eintragung in die wässr. Säurefuchsinlösung müssen die Schnitte in Alkohol abnehmender Konzentration überführt werden. In der Farblösung bleiben sie 48 Std. oder länger; dann folgt Auswaschen mit Wasser (2 bis 4 Min.), Entwässern durch Phenol oder Alkohol steigender Konzentration, Behandeln mit Nelkenöl und Einschließen in Kanadabalsam[1]). — Gute Resultate ergab für die Untersuchung der Chromatophoren in panaschierten Blättern die Fixierung in einer gesätt., absol. alkohol. Lösung von Sublimat und Pikrinsäure oder einer konz. Pikrinsäurelösung in 94-proz. Alkohol und 24-stündige Färbung der Mikrotomschnitte mit 0,2-proz. Säurefuchsin oder Gentianaviolett. Das Gentianaviolett läßt man zweckmäßig länger als 24 Std. einwirken; die damit gefärbten Schnitte können mit Säurefuchsin nachbehandelt werden, bis die Zellkerne in den Präparaten blau, die Chromatophoren violett hervortreten. Für Handschnitte empfiehlt sich Fixierung mit gesätt. wässr. Sublimatlösung und, nach dem Auswaschen mit Wasser, Färben in konz. wässr. Jodgrün, Auswaschen in Wasser, dann Wasser und Alkohol und mit Salzsäure schwach angesäuertem Wasser, worauf die Schnitte in Glyzerin eingeschlossen werden können[2]).

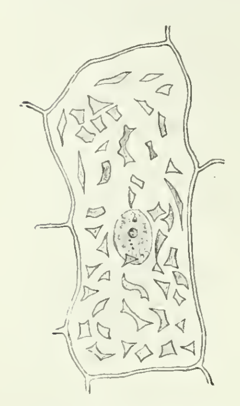


Fig. 81. Zelle von der Oberseite des Kelches von Tropaeolum majus. Untere Wandung einer Epidermiszelle mit den ihr anliegenden Farbkörpern. Vergr. 540.

Um anders tingierte Farbkörper[3]), und zwar Chromoplasten, kennnenzulernen, wenden wir uns zunächst an die Kapuzinerkresse, Tropaeolum majus. Wir wählen eben erst geöffnete Blüten, weil die Farbkörper sich in älteren zu zersetzen beginnen. Zunächst stellen wir Flächenschnitte von der Oberseite der gelb gefärbten Kelchblätter her. Das Präparat läßt sich auch mit einer feinen Pinzette gewinnen, wenn man mit dieser entsprechend tief in das Gewebe des Kelchblattes einsticht und einen Streifen von ihm abzieht. Man lege das Präparat in den Wassertropfen mit nach oben gekehrter Epidermis. Dann beginne man sofort die Untersuchung, weil alsbald eine nachteilige Wirkung des Wassers auf die Chromoplasten sich geltend macht. Der Rand des Schnittes wird von Anfang an gelitten haben, daher sind entferntere, noch unveränderte Zellen für eingehendere Betrachtung auszuwählen. Die Farbkörper sind gelb, mit einem Stich

[1]) V. Vouk, Sitzber. K. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl., Bd. CXVII, Abt. 1, 1908, S. 1337.

[2]) E. Pantanelli, Malpighia, Bd. XV, 1902, S. 363.

[3]) A. F. W. Schimper, Bot. Ztg., 1880, Sp. 881; 1881, Sp. 185; 1883, Sp. 105 und Sp. 809; A. Meyer, Das Chlorophyllkorn, 1883; ferner Bot. Ztg., 1883, Sp. 489; A. F. W. Schimper, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XVI, 1885, S. 1; M. Courchet, Ann. d. sc. nat., Bot., 7. sér., T. VII, 1888, S. 263; W. Rothert, Bull. intern. Acad. Sc. Cracovie, Cl. math.-nat., sér. B. 1, 1914, S. 1ff.

ins Orangerot. Sie erscheinen spindelförmig, drei- bis viereckig (Fig. 81), in Formen, die an kristallinische erinnern und in der Tat dadurch bedingt sind, daß ihr Farbstoff auskristallisierte, während ihr Plasma gleichzeitig eine sehr starke Reduktion erfuhr. Die unversehrten Chromoplasten sehen homogen aus. Unter dem Einfluß des Wassers schwellen sie an, runden sich ab und werden vakuolig, d. h. es treten mit Wasser erfüllte Hohlräume in ihnen auf. Die Farbkörper liegen besonders zahlreich der inneren Wand der Epidermiszellen der Kelchblattoberseite an. Die braunen Streifen an der Oberseite der Kelchblätter rühren, wie entsprechende Schnitte lehren, von Epidermisstreifen her, deren Zellen mit karminrotem Zellsaft erfüllt sind. Diese Zellen enthalten außerdem gelbe Körner, die aber der gefärbte Zellsaft fast unsichtbar macht. In den roten Zellen zeichnet sich der Zellkern meist als heller Fleck. Die Blumenkronblätter weisen ähnliche Verhältnisse auf; ihre Ränder, sowie ihre Wimpern können in ihrer ganzen Dicke zur Beobachtung verwendet werden. Die den Kronblättern anhaftende Luft stört die Beobachtung, doch wird man stets einzelne luftfreie Stellen finden oder durch leichten Druck auf das Präparat herstellen können. Dann erschweren die Papillen freilich noch etwas die Untersuchung, denn alle Epidermiszellen der Kronblätter sind zu stumpfen Kegeln nach außen vorgewölbt. Nur den braunen Streifen an den beiden unteren Kronblättern gehen diese Auswüchse ab. Die Papillen sind es, welche den Kronblättern ihr sammetartiges Aussehen verleihen. Sie zeigen sich an der Kronblattoberseite stärker als an der Unterseite entwickelt. Die Luft wird sehr energisch zwischen den Papillen festgehalten. Die feuerroten Stellen am Grunde der Kronblätter rühren von rosenrotem Zellsaft und gelben Körnern in den Epidermiszellen her. — Während der Untersuchung der Kelchblätter muß es auffallen, daß an ihrer Oberseite die Oberfläche der Epidermiszellen longitudinal gestreift ist. Die Streifen kehren sich nicht an die Grenzen der einzelnen Zellen und sind Falten der die Epidermis bedeckenden Kutikula.



Fig. 82. Eine Zelle aus dem Fruchtfleisch von Crataegus coccinea mit orangerot gefärbten Farbkörpern und mit Zellkern *n*. Vergr. 540.

Ganz ähnliche Chromoplasten, wie in der Tropaeolumblüte, kann man im Herbst und zu Beginn des Winters in den Crataegus-Früchten finden. Wir nehmen einen reifenden, doch nicht überreifen, rot gefärbten Steinapfel von Crataegus coccinea in Untersuchung. Ein Schnitt durch das rote Fruchtfleisch zeigt uns orangerot tingierte Farbkörper in den Zellen. Diese Farbkörper haben die Gestalt von stark verlängerten Spindeln, von Dreiecken oder Trapezen; oft erscheinen sie sichelförmig oder S-förmig gekrümmt (Fig. 82). Sie sind verhältnismäßig widerstandsfähig gegen Wasser. Ihre Gestalt ist durch das Auskristallisieren des Farbstoffs bedingt. — An vielen Stellen des Schnittes erscheinen die

Zellen völlig getrennt und abgerundet, so daß sie uns auch ein lehrreiches Beispiel für die Möglichkeit nachträglicher Trennung ursprünglich fest verbundener Zellen bieten. Die Zellen führen einen Kern, einen sehr dünnen Wandbeleg aus Zytoplasma und zeigen auch einige feinere Zytoplasmastränge im Zellumen.

Wer nur über relativ schwache Vergrößerungen verfügt, tut besser, statt des Crataegus-Apfels gleich die Hagebutte einer Rose in Untersuchung zu nehmen. Man wähle nicht allzu reife, doch bereits rot gefärbte Fruchtbecher (Hypanthien) für die Beobachtung aus. Die annähernd isodiametrischen, abgerundeten Zellen des Fruchtbecherfleisches sind ziemlich stark verdickt und führen, abgesehen vom Zytoplasmaschlauch und Zellkern, schön zugespitzte, orangefarbene Spindeln. Manchmal sind zwei Spindeln mit ihrem Ende verbunden, als wenn sie durch Teilung auseinander hervorgegangen wären; auch dreieckige, an den Ecken lang zugespitzte Figuren fehlen nicht. Untersucht man ganz reife Becher, so findet man die erwähnten Zellen voneinander getrennt, fast kugelrund. Überreife Fruchtbecher, die sich weich anfühlen, weisen im Fleisch nur noch abgestorbene Zellen mit kollabiertem Zytoplasmaschlauch und mehr oder weniger zersetzten Farbkörpern auf.



Fig. 83. Farbkörper aus der Wurzel der Mohrrübe; z. T. mit Stärkekörnern. Vergr. 540.

In den Beerenfrüchten des Spargels, Asparagus officinalis, treten uns ebenfalls stark zugespitzte, orangefarbene Spindeln entgegen. Sie zeichnen sich auch durch ihre Widerstandsfähigkeit gegen Wasser aus. Eine Trennung der Zellen, wie bei den beiden vorausgegangenen Beispielen, ist auch hier zu beobachten.

Im Fruchtfleisch der Tomaten (Lycopersicum esculentum), die man sich den Winter über im Gewächshaus halten kann, zeigen hingegen die relativ großen, orangeroten Chromoplasten die Gestalt von rundlichen Chloroplasten, wie sie sie übrigens auch, aber gelb gefärbt, die Blütenblätter von Doronicum (Gemswurz)-Arten, ferner von gelben Chrysanthemen aufweisen, welche die ersteren im Winter ersetzen können.

Wem die schönen, großen Blüten der in Gewächshäusern botanischer Gärten verbreiteten Strelitzia Reginae zur Verfügung stehen, sollte nicht versäumen, diese auf Farbkörper zu untersuchen. In den Zellen der orangerot gefärbten, äußeren Perigonblätter wird er langgezogene Spindeln von einer für Farbkörper auffallenden Größe finden. Um so auffälliger ist es, in den Zellen der inneren, blauen Perigonblätter runde, blaue Gebilde zu finden, die wie Körner aussehen. Bei näherer Untersuchung und gleichzeitigem Druck auf das Präparat kann man aber feststellen, daß es auch hier nur blauer Zellsaft ist, der im Zytoplasma der Zellen zahlreiche runde Vakuolen füllt.

Ein sehr interessantes Objekt, das stets zur Verfügung steht, gibt die Wurzel der Mohrrübe (Daucus carota) ab. Die orangerote Färbung dieser Wurzel rührt von karmin- und orangeroten Farbkörpern her, die kristallinische Gestalt besitzen. Die häufigsten Formen finden sich in der Fig. 83 zusammengestellt. Es sind kleine, rechteckige Tafeln oder Rhomben, die Rhomben oft nadelförmig gestreckt, dann Prismen verschiedener Länge, manchmal fächerförmig

nach dem einen Ende zu erweitert. Diesen kristallinischen Bildungen sind oft kleine, einseitig vorspringende Stärkekörner angefügt. Denn auch hier handelt es sich um Chromatophoren, deren Farbstoff, das Karotin, auskristallisierte. Dem Kristall sitzen nur noch geringe Plasmamengen an, denen dann auch die Stärkekörner entspringen.

Die Farbstoffkristalle der Mohrrübe besitzen einen besonders auffallenden Pleochroïsmus. Wir wollen sie daher auch nicht verlassen, ohne ihr optisches Verhalten zu prüfen. Zur Feststellung des Pleochroïsmus bedient man sich nur eines NICOLschen Prismas, und zwar am besten des Polarisators, weil bei Anwendung des Analysators mit dem Umstand zu rechnen ist, daß die vom Spiegel reflektierten Lichtstrahlen zeitweise schon polarisiert sind. Wird nun der Polarisator oder der Objektträger gedreht, so werden die Karotinkristalle abwechselnd dunkler und heller, die rhombischen Tafeln bei bestimmter Lage sogar farblos[1]).

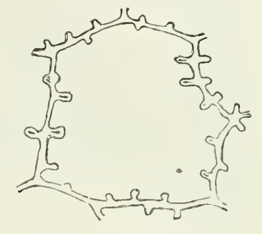


Fig. 84. Eine Epidermiszelle von der Kronblattunterseite von Vinca minor. Vergr. 540.

Der gelbe und orangerote Farbstoff ist fast immer an eine plasmatische Unterlage gebunden, doch kommen vereinzelte Fälle vor, wo er im Zellsaft gelöst uns entgegentritt. Einen solchen Fall wollen wir bei einem Wollkraut, und zwar bei Verbascum nigrum, untersuchen. Wir können die Kronblätter ohne weitere Präparation in den Wassertropfen des Objektträgers legen, nur müssen wir auch hier dann durch Druck die anhaftende Luft möglichst zu entfernen suchen. Die Epidermiszellen der Ober- wie der Unterseite dieser Kronblätter haben welligen Umriß; die Gelbfärbung ihres Saftes fällt ohne weiteres auf. Die braunen Flecken am Grunde der Kronblätter rühren von purpurfarbigem bis braungefärbtem Zellsaft her[2]). — In der Epidermis der Staubfäden, von denen sich leicht dünne Lamellen mit dem Rasiermesser abheben lassen, sieht man auch gelben Zellsaft, außerdem aber in jeder Zelle noch einen zinnoberroten, unregelmäßigen Farbstoffklumpen und eine Anzahl farbloser, von Stärke erfüllter Leukoplasten.

So könnten wir auch feststellen, daß die gelb gefärbten Teile der Unterlippe an der Blumenkrone von Antirrhinum majus schwefelgelben Saft in den Zellen führen, daß die rot gefärbten Teile rosenroten Zellsaft enthalten und stellenweise auch eine, seltener mehr, karminrote Farbstoffkugeln aufweisen.

Blauen Zellsaft finden wir in der Epidermis der Blumenkrone vom Immergrün, Vinca major oder minor. Die Epidermiszellen, namentlich der Oberseite, sind papillenartig vorgewölbt. Die Epidermis beider Seiten läßt sich leicht mit der Pinzette abziehen. Die Seitenwände der Epidermiszellen zeigen in das Zellumen vorspringende Leisten (Fig. 84), die oft an ihrer inneren Kante angeschwollen sind, sich dort sogar T-förmig erweitern können und wegen der stärkeren Lichtbrechung an ihrer Oberfläche und der schwächeren Lichtbrechung im Innern ganz den Eindruck von Falten machen.

---

[1]) Vgl. hierzu auch H. AMBRONN, Anleitung zur Benutzung des Polarsationsmikroskops. 1892, S. 49.

[2]) S. a. Reg. IV Blütenfarben.

Rosafarbiger Zellsaft tritt uns in den Kronblättern roter Rosen entgegen. Die Epidermis läßt sich auch hier leicht abziehen. Die der Oberseite hat ziemlich starke Papillen aufzuweisen, erscheint daher schön samtartig. Die Kutikula zeichnet sich durch ausgeprägte Streifung aus.

An den blauen Kelchblättern des Rittersporns, Delphinium consolida, finden wir die Epidermis sowohl der Ober- wie der Unterseite aus wellig umgrenzten Zellen aufgebaut. Die Epidermiszellen der Oberseite erheben sich außerdem in ihrer Mitte zu einer Papille. Die Streifen der Kutikula steigen an dieser Stelle empor, so daß sie bei Einstellung des Mikroskops auf die halbe Höhe der Papillen sonnenähnliche Figuren bilden. Die Zellen enthalten blauen, etwas ins Violette spielenden Zellsaft, außerdem noch in vielen Zellen blaue Sterne, die aus kurzen Nadeln auskristallisierten Farbstoffs bestehen. Die Epidermis läßt sich in kleinen Stückchen abziehen; das Kelchblatt ist außerdem durchsichtig genug, um nach Entfernung der Luft an den Rändern seiner ganzen Dicke nach untersucht werden zu können.

Die Beispiele für blauen und roten Zellsaft lassen sich leicht vermehren; fast immer begegnet man so durch Anthozyane (vgl. Reg. IV) gefärbtem Saft in blauen und roten Blüten.

In der Epidermis der hochroten Blüten von Adonis flammeus treten uns hingegen rote Farbkörper entgegen. Die Präparate lassen sich auch hier mit der Pinzette herstellen. Die Farbkörper sind unregelmäßig, rundlich bis ellipsoidisch und relativ groß. Sie erscheinen feinkörnig wegen der zahlreichen roten Grana, die sie führen, und quellen rasch in Wasser, wobei die Grana in starke Molekularbewegung geraten. Schwache Molekularbewegung ist an ihnen übrigens schon in anscheinend ganz unversehrten Zellen zu beobachten. Die Epidermiszellen sind gestreckt, die Kutikula longitudinal gestreift: die Streifen laufen deutlich über die Zellgrenzen fort.

In der Zeit, wo Adonis fehlt, können die in den Gewächshäusern verbreiteten Aloë-Arten, soweit sie rot gefärbte Teile am Perigon aufweisen, mit ähnlichem Erfolg der Untersuchung dienen.

Zieht man mit der Pinzette ein Stück Haut von der reifen, schwarz erscheinenden Beere des schwarzen Nachtschattens (Solanum nigrum) ab, legt dieses Präparat auf den Objektträger, mit der Innenseite nach oben, und drückt mit dem Deckglas etwas auf, so ist man sicher, am Rand des Präparats isolierte Zellen aus dem äußersten Fruchtfleisch vor sich zu haben. Diese sind mit violettem Zellsaft erfüllt, weisen aber außerdem Chlorophyllkörner in dem wandständigen Plasma auf. Auch der Zellkern liegt, von Chlorophyllkörnern umgeben, flach der Zellwandung an. Sehr leicht ist hier festzustellen, daß das Wandplasma farblos ist, daß der violette Zellsaft scharf gegen dieses absetzt, und daß die Chlorophyllkörner in dem farblosen Wandplasma liegen. — Die nach innen zu folgenden Zellen des Fruchtfleisches werden viel größer, ihr Zellsaft ist farblos, sie führen aber reichlich Chlorophyllkörner. Ihre Wände sind so zart, daß sie durch die Präparation meist leiden.

Wir untersuchen auch noch eine der blutfarbigen Varietäten unserer Sträucher oder Bäume, oder auch eine krautartige Pflanze mit rotbraun gefärbten Blättern und stellen fest, daß die

Zellen der Epidermis rosa gefärbten Zellsaft enthalten. Bei manchen Objekten, wie z. B. in den äußeren Blättern des Rotkohls, finden sich unter der roten Zellsaft führenden Epidermis Zellen, welche neben ebenso gefärbtem Zellsaft noch Chlorophyllkörner führen. Das Zusammenwirken von Rot und Grün ergibt die eigentümliche Gesamtfarbe.

Für die herbstliche Rotfärbung der Blätter der wilden Rebe, Parthenocissus quinquefolia, stellen wir fest, daß sie von rosafarbigem Zellsaft in den Zellen der inneren Gewebe, nicht der Epidermis, herrührt. — Ausgeprägt gelbe Herbstfärbungen der Blätter beruhen auf einer bei der Zersetzung der Chlorophyllkörner bzw. des Chlorophyllfarbstoffs entstehenden Gelbfärbung[1]), wie uns dies in schönster Weise die Blätter von Ginkgo biloba oder, in Ermangelung dieser, die der Ahorn-Arten zeigen können. Herbstliche Braunfärbung der Blätter rührt von einer entsprechenden Verfärbung der Zellwände, vornehmlich aber des Zellinhalts her, wie sich dies leicht bei der Eiche nachweisen läßt.

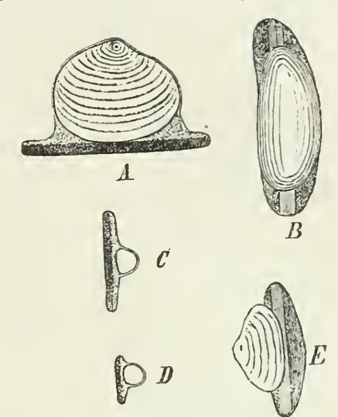


Fig. 85. Phajus grandifolius, Stärkebildner aus der Scheinknolle. *A*, *C*, *D* und *E* von der Seite, *B* von oben, *C* und *D* mit noch kleinen Stärkekörnern. Der helle Streifen in *B* und *E* ein Eiweißkristall. Vergr. 540.

Die Stärkekörner werden in besonders individualisierten, zytoplasmatischen Gebilden angelegt. Wir haben als solche bereits die Chlorophyllkörner kennengelernt, dann auch die Farbkörper, in denen oft noch Stärkekörner nachzuweisen waren; wir wollen schließlich auch noch farblose Stärkebildner ins Auge fassen. Diesen fällt die Bildung der Stärke in tieferen Schichten des Pflanzenkörpers zu. Wir können alle die hier behandelten Gebilde aber als Chromatophoren, auch Plastiden genannt, zusammenfassen und sie des weiteren, wie schon im vorigen geschehen, als Chlorophyllkörner, Farbkörper und farblose Stärkebildner, als Chloroplasten, Chromoplasten und Leukoplasten unterscheiden. Sie haben gemeinsamen Ursprung und können ineinander übergehen. Ob sie aus Chondriosomen hervorgehen, jenen faden-, spindel- bzw. hantelförmigen Gebilden, die sich im Zytoplasma mit Hilfe bestimmter Fixierungs- und Färbungsmethoden nachweisen lassen[2]), ist nicht entschieden. Sie sind lebende Elemente des Zelleibes und liegen eingebettet im Zytoplasma. Hingegen stellten die blauen Sterne, die wir im Zellsaft der Blüten von Delphinium consolida fanden, nur aus diesem auskristallisierten Farbstoff dar, und ebenso waren die Farbstoffklumpen, die wir in dem roten Zellsaft der Staubfäden-Epidermis bei Verbascum sahen, nicht zu den Chromatophoren zu rechnen.

---

[1]) Näheres u. a. bei E. Goerrig, Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. XXXV, 1. Abt., 1918, S. 342 ff.

[2]) Vgl. dazu Abschnitt XXXII dieses Praktikums und Reg. IV Chondriosomen.

Unter die Chromatophoren wurden noch sogenannte Zyanoplasten eingereiht [1]), die in den Blüten und Früchten zahlreicher Pflanzen und zwar direkt aus dem Plasma durch Neubildung hervorgehen und Anthozyane (s. Reg. IV) erzeugen sollen, deren Vorkommen bisher nur für den Zellsaft bekannt war.

Die größten und schönsten Stärkekörner werden in den Leukoplasten erzeugt, doch sind derartige Leukoplasten nicht eben leicht zu beobachten. Als günstigstes Objekt können junge Scheinknollen einer in den botanischen Gärten und den Kunstgärtnereien oft kultivierten, tropischen Orchidee Phajus grandifolius, gelten. Man macht nicht zu dünne Querschnitte durch eine solche Scheinknolle und untersucht sie am besten in 5-proz. Zuckerlösung. Stellt man auf tieferliegende Stellen ein, die beim Schneiden nicht gelitten haben, so findet man unschwer an der Basis der bereits großen, stark exzentrischen Stärkekörner die flachen, gestreckt elliptischen (Fig. 85 *B*) im Profil stäbchenförmig erscheinenden, weißen Leukoplasten (Fig. 85 *A*). Jeder Leukoplast schließt einen stabförmigen Eiweißkristall ein. Dieser kann aus kleineren Leukoplasten herausragen. Nach der Oberfläche der grün gefärbten Scheinknolle hin beginnen sich die Leukoplasten grün zu färben und nehmen allmählich die Farbe und das gewohnte Aussehen von Chlorophyllkörnern an.



Fig. 86. Stärkebildner mit Stärkekörnern aus dem Rhizom von Iris germanica. Vergr. 540.

Ein relativ nicht ungünstiges und leichter zu beschaffendes Objekt ist das Rhizom der deutschen Schwertlilie, Iris germanica. Man führt Flächenschnitte von ihm parallel zur Oberfläche aus. Die äußerste Gewebeschicht hat man zu entfernen, denn erst tiefer folgen die Stärkelagen. Die Untersuchung ist wiederum am besten in 5-proz. Zuckerlösung zu vollziehen. In unversehrten Zellen erscheinen die Leukoplasten als Plasma-Ansammlungen an dem einen Ende der Stärkekörner (Fig. 86). Dort nur wachsen letztere und besitzen demgemäß exzentrischen Bau. Die Leukoplasten werden rasch körnig und zerfallen schließlich in Körnchen, die Molekularbewegung zeigen. Zwei Stärkekörner an einem Leukoplasten sind keine seltene Erscheinung. In solchem Fall kommen diese Stärkekörner, weiter wachsend, alsbald in gegenseitige Berührung und erhalten dann gemeinsame Schichten. Derartige Erscheinungen führen hier, wie in anderen Fällen, zur Bildung zusammengesetzter Stärkekörner.

Eine Pflanze, die ganz besonders leicht die Beobachtung der Stärkebildner gestattet, ist die Urticacee Pellionia Daveauana [2]). Diese Pflanze läßt sich in den Warmhäusern ohne Mühe kultivieren und vermehren und hat sich über alle botanischen Gärten verbreitet. Die Stärkebildner bekommt man auf jedem Querschnitt, den man durch den Stengel der Pflanze ausführt, zu sehen. Sie sind hier grün, somit in dieser Beziehung nicht eigentliche Leukoplasten, in ihren Funktionen aber mit den Leukoplasten insofern übereinstimmend, als sie die Hauptmasse ihrer Stärke nicht durch eigene Assimilation,

[1]) J. Politis, Rendic. della Accad. dei Lincei, Bd. XX, 1911, Ser. 5. S. 828.

[2]) Vgl. A. Dodel, Flora, Bd. LXXV, 1892, S. 267; A. Binz, Flora, Bd. LXXVI. Ergb. 1892, S. 34; A. Meyer, Untersuchungen über die Stärkekörner. 1895, S. 288.

sondern aus zugewanderten Reservestoffen bilden. Der Umstand, daß sie grün sind, macht sie leichter sichtbar. Ein Schleim, mit dem sich der Schnitt bei der Herstellung überzieht, schützt ihn vor dem schädigenden Einfluß des umgebenden Wassers. Die Stärkekörner, die aus den Stärkebildnern hervorwachsen, werden auch hier sehr groß und zeigen stark exzentrischen Bau. An dem vom Bildungskern abgekehrten Ende selbst der großen Stärkekörner ist noch der Stärkebildner als grüne Kappe zu sehen; an den übrigen Stellen überzieht er, wie auch in anderen Fällen, in einer so dünnen Schicht das Stärkekorn, daß man ihn nicht ohne weiteres erkennen kann.

Die Leukoplasten bestehen aus eiweißartigen Substanzen[1]). In Jodwasser fließen sie zu homogenen Kugeln von gelber bis brauner Farbe zusammen. Wenn sie zuvor mit Alkohol fixiert wurden, färben sie sich mit Salpetersäure, zumal bei nachfolgender Behandlung mit Ammoniak, gelb, mit Millons Reagens rötlich. In einer Lösung von Kaliumbichromat werden die frischen Leukoplasten in kurzer Zeit zerstört, während der Zellkern gleichzeitig an Widerstandsfähigkeit gewinnt. Bei der geringsten Verletzung der Zelle fließen sie zu gleichartigen Kugeln zusammen; durch Erhitzen im Wasser werden sie aufgelöst[2]).

Eine tadellose Fixierung der Leukoplasten ist schwer zu erhalten. Diejenigen Fixierungsmittel, welche die übrigen Inhaltsbestandteile der Zellen am besten konservieren, scheinen im allgemeinen auch für Leukoplastenfixierung die wertvollsten zu sein[3]). Doch muß man bei jedem Objekt die beste Methode ihrer Anwendung ausprobieren. Bei Wurzelspitzen von Allium Cepa erhielt z. B. Němec gute Ergebnisse, wenn er diese vor dem Fixieren mit Flemmingscher Lösung zunächst für 2 Min. in 98° warmes Wasser brachte und dann für 16 Std. in kaltes Aq. dest. übertrug[4]). Als günstige Färbungsmittel kommen zunächst Eisen-Hämatoxylin, in zweiter Linie Safranin-Gentianaviolett in Betracht.

Gute Dauerpräparate der Leukoplasten von Phajus z. B. erhält man, wenn man kleine Knollenstückchen nach mehrstündiger Fixierung in Pikrinsäure etwa $^1/_2$ Tag lang oder auch kürzere Zeit in Wasser liegen läßt und hierauf, ähnlich wie wir dies für Eiweißkristalle getan, in 1-proz. wässr. Goldchloridlösung einträgt, wo sie 1—3 Std., vor Licht geschützt, verbleiben. Dann werden die Schnitte in 5-proz. Ameisensäure gelegt und etwa 3 Std. lang, nicht länger, weil sonst die Eiweißkristalle leiden, der Einwirkung des Lichts ausgesetzt. Sie gelangen weiter in verd. Glyzerin und werden in Glyzerin-Gelatine eingeschlossen. Die Chlorophyllkörner und Leukoplasten, sowie die Zellkerne treten uns in solchen Präparaten mit schön roter bis violetter Farbe entgegen. Die Fixierung läßt sich auch mit 2-proz. Sublimat in Alk. abs. ausführen, hierauf nach Auswaschen der Schnitte die Behandlung mit Goldchlorid (1 Tropfen 10-proz. wässr. Goldchloridlösung auf 20 Tropfen Alk. abs.) einige Std. lang im Dunkeln vornehmen und dann die Färbung in Ameisensäure (5—10 T. Ameisensäure auf 100 T. 50-proz. Alkohol) im Licht vollziehen[5]). — Auch mit konz. alkohol. Sublimatlösung läßt sich in vielen Fällen eine gute Fixierung

[1]) Vgl. hierzu S. 136.
[2]) A. Zimmermann, Beitr. z. Morphol. u. Phys. der Pflanzenzelle, 1890, H. 1, S. 3.
[3]) H. Lundegård, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVIII, 1910, S. 345.
[4]) B. Němec, Das Problem der Befruchtungsvorgänge und andere zytologische Fragen. Berlin 1910, S. 292.
[5]) Nach Versuchen von V. Chmielewsky im Bonner botanischen Universitäts-Institut.

der Leukoplasten und Chromatophoren überhaupt erzielen. Die Objekte müssen bis 24 Std. in ihr verweilen, und das Sublimat dann völlig ausgewaschen werden [1]). Die Färbung gelingt hierauf sehr schön mit Säurefuchsin, und zwar einer 0,2-proz. Lösung in Aq. dest., in welcher die Schnitte bis 24 Std. verweilen dürfen. Dann folgt Auswaschen in fließendem Wasser, das je nach Umständen kürzer oder länger zu dauern hat; hierauf untersucht man in Glyzerin oder läßt die Präparate an der Luft austrocknen, um sie in Kanadabalsam einzuschließen. Entwässern mit Alkohol zur Übertragung in Kanadabalsam ist nicht zulässig, da die Chromatophoren dabei entfärbt werden [2]). — Dieser sehr ähnlich ist die folgende Fixierungs- und Färbungsmethode: Die Schnitte werden in Sublimatalkohol (5 g Sublimat in 100 ccm Alk. abs., der zuletzt mit 10 Tropfen Salzsäure angesäuert wird) fixiert. Die fixierten und entfärbten Präparate werden dann zur Entfernung des Sublimats mehrmals in frischen 95-proz. Alkohol gelegt. Die Färbung wird mit Säurefuchsin (20 g Säurefuchsin, 3 ccm Anilinöl, 200 ccm Wasser) in ca. 18 Min. vollzogen. Dann wäscht man mit Pikrinsäure (50 ccm gesätt. alkohol. Pikrinsäurelösung und 100 ccm Wasser) so lange aus, bis kein Farbstoff mehr abgegeben wird, legt dann in Alkohol, um die Pikrinsäure zu entfernen, und schließlich 15 Min. lang in Chloroform [3]).

Wir wollen den Umstand, daß uns Scheinknollen von Phajus grandifolius zur Hand sind, auch benutzen, um die Indikan-Reaktion an ihnen vorzunehmen [4]). An angeschnittenen Scheinknollen, deren periphere Zellschicht, der Luft ausgesetzt, langsam abstirbt, ist meist schon eine Blaufärbung zu bemerken, die der Spaltung des Indoxylglykosids, Indikan [5]), unter Bildung von Indigblau, ihre Entstehung verdankt. Taucht man Schnitte der Scheinknollen in 40-proz. Alkohol, so wird Indigblau in den Zellen gebildet. Dessen Menge ist aber nicht sehr groß, da das Indikan in Alkohol löslich ist und z. T. herausdiffundiert. Hingegen wird man eine sehr schöne Reaktion erhalten, wenn man auf einem Objektträger liegende, kleine Stücke der Scheinknolle in einem geschlossenen Gefäß etwa 24 Std. lang Alkoholdämpfen aussetzt. In einer gut schließenden Glasdose, in der man das Präparat und ein Schälchen mit Alk. abs. untergebracht hat, wird die Reaktion in erwünschter Weise vor sich gehen. Ein Austrocknen der Gewebestückchen kann man durch Anbringen von nassem Fließpapier an der Innenseite der Glasdose verhindern. Das Indikan wird durch die Alkoholdämpfe in den Zellen zerlegt und Indigblau gebildet, doch nicht durch den direkten Einfluß des Alkohols, vielmehr unter dem Einfluß der Zellsäfte, die in den durch die Alkoholdämpfe getöteten Zellen auf das Indikan einwirken. Durch Einlegen der Gewebestückchen in Alk. abs. kann man hierauf ihnen den Chlorophyllfarbstoff entziehen. Die charakteristische Blaufärbung des Indigblau und damit die ursprüngliche Verteilung des Indikans läßt sich jetzt direkt mit bloßem Auge verfolgen. Zur mikroskopischen Untersuchung überträgt man Schnitte aus so

[1]) Vgl. hierzu S. 64.

[2]) Nach A. ZIMMERMANN, Die bot. Mikrotechnik, S. 197, 198. Auch 2. Aufl., herausg. von H. SCHNEIDER, Jena, 1922, S. 336 ff.

[3]) A. MEYER, l. c. 1895, S. 166. Im wesentlichen nach dem ALTMANNschen Verfahren. Über andere Fixierungsmittel vgl. S. 158.

[4]) H. MOLISCH, Sitzber. d. Wien. Akad., Math.-Nat. Kl., Bd. CII, 1893, S. 269.

[5]) Vgl. dazu M. W. BEIJERINCK, Kon. Ak. Wetensch. Amsterdam, Reprint. fr. Proceed. Meeting 30. Sept. 1899, 31. März u. 30. Juni 1900. Ferner FR. CZAPEK, Biochemie der Pflanzen. 2. Aufl., III. Bd., 1921, S. 362, bzw. 3. Aufl. 1922, Ebenda.

behandeltem Material in konz. Chloralhydratlösung und findet dann das Indigblau innerhalb der Zellen in Gestalt zahlreicher, tief blauer Körnchen oder Kriställchen verteilt. Diese sind unlöslich in Wasser, Alkohol, Äther, verd. Säuren und Alkalien, dagegen löslich in heißem Anilin, in Phenol, Chloroform und konz. Schwefelsäure (s. weiteres im Reg. IV Indikan).

Wir nehmen nunmehr eine Blüte von Ornithogalum, und zwar wenn möglich, von Ornithogalum umbellatum, dem Vogelmilchstern, und führen einige Flächenschnitte an der Oberfläche des Fruchtknotens aus. Wir wollen hier Gebilde studieren, die eine Emulsion von Fett mit Eiweiß darstellen. Es sind wahrscheinlich nicht, wie früher angenommen wurde, protoplasmatische Körper (Elaioplasten)[1]), sondern Klümpchen aus Eiweißgallerte, die Fetttröpfchen einschließen[2]). Jede Epidermiszelle des Fruchtknotens von Ornithogalum umbellatum weist einen solchen Fettkörper auf. Sie liegen als ziemlich stark lichtbrechende, kugelige oder unregelmäßig polygonale Gebilde den Zellkernen einseitig an und erscheinen nicht homogen, sondern mehr oder weniger körnig. — Untersuchen wir die Epidermis einer jungen Fruchtanlage, so finden wir, daß die Fettkörper bedeutend an Größe zunahmen; sie erscheinen wohl 2- bis 3mal so groß wie die substanzarm gewordenen Zellkerne. Die Gestalt der Elaioplasten wird zugleich unregelmäßig. Hat die Fruchtanlage ein bestimmtes Altersstadium erreicht, so sehen die Fettkörper aus wie ein mit öliger Substanz durchtränkter Schwamm. Später werden sie maulbeerartig und so unregelmäßig, daß sie in jeder Zelle ein anderes Bild bieten. Sie sitzen kappenförmig den Kernen auf, umfassen sie wohl auch. Einzelne Ausstülpungen können sich von dem ursprünglichen Elaioplasten losgelöst haben; dann sieht man mehrere Elaioplasten in einer Zelle. — In fixierten Präparaten erscheinen die Fettkörper deutlich körnig, vielleicht nur, weil die fixierende Flüssigkeit eine Fällung in ihnen veranlaßte. Alkohol löst das ölhaltige Produkt der Elaioplasten fast augenblicklich auf. Andere Fixierungsmittel rufen meist auch starke Veränderungen an den Elaioplasten hervor. Das beste Verfahren ist, die Fixierung mit einer verd. Alkannatinktur in 1-proz. Essig- oder Ameisensäure vorzunehmen. Die verd. Säure fixiert alsdann die Elaioplasten und den protoplasmatischen Inhalt der Zellen, wobei sich die Elaioplasten schon nach Ablauf von einer, höchstens von 5 Min. sehr schön rot färben. Man kann die so behandelten Schnitte noch weiter nachfärben, am besten mit einer Lösung von Methylgrün und Glyzerin, und dann in Glyzerin-Gelatine einschließen. — Sehr gute Präparate erhält man auch bei Anwendung einer mit Wasser verdünnten, zuvor filtrierten Alkannalösung, der Methylgrün in 50-proz. Alkohol und 1-proz. Essigsäure zugesetzt wurde. Wünscht man Präparate von Elaioplasten in Balsam einzuschließen, so ist die Fixierung mit 1-proz. Osmiumsäure vorzunehmen. Die Elaioplasten werden dabei braun, dunkeln dann noch

[1]) Vgl. M. Raciborski, Abhandl. Akad. d. Wiss., Krakau, Bd. XXVII, S. 1 und Anzeiger ders. Akad., 1893, S. 259; auch J. H. Wakker, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XIX, 1888, S. 475, und A. Zimmermann, Beitr. z. Morph. u. Phys. d. Pflanzenzelle, Bd. I, H. 3, S. 185. Ferner R. Beer, Ann. of Bot., Bd. XXIII, 1909, S. 63, der Elaioplasten für die dikotyle Gaillardia Lorenziana feststellte und sie als Aggregationsprodukt degenerierender Leukoplasten hinstellt, schließlich J. Politis, Rendic. Accad. Lincei, Bd. XX, 1911, S. 599, der Elaioplasten bei 30 neuen Arten aus 22 Monokotylengattungen und bei einigen Malvaceen fand, und nach dem ihr Stroma aus denselben Stoffen wie die Kernkörperchen bestehen soll. H. Molisch, Mikrochemie der Pflanze, 2. Aufl., Jena 1921, S. 392 ff.

[2]) A. Meyer, Morph. u. phys. Analyse d. Zelle, Jena 1920, I, S. 297.

nach, wenn man die in ein wenig Wasser ausgewaschenen Schnitte gelinde erwärmt. Die ölartige Substanz der mit Osmiumsäure fixierten Elaioplasten löst sich nicht mehr in Alkohol, Xylol und ätherischen Ölen und kann somit in der üblichen Weise in Balsam eingeschlossen werden [1]). Mit Methylviolett lassen sich die Elaioplasten violett, mit Zyanin schön blau färben. Auch zeigt sich eine konz., wässr. Pikrinsäurelösung zur Fixierung sehr geeignet. Die hiermit fixierten Schnitte erhalten durch Anilinblau und Alkannin eine schöne Doppelfärbung. Man setzt, um diese zu erlangen, einer dunkelblauen Lösung von Anilinblau in Wasser so lange tropfenweise Alkannatinktur zu, bis die Flüssigkeit dunkelpurpurrot erscheint. Hierin bleiben die Schnitte 20 Std. In Glyzerin untersucht, erscheint das Plasma hellblau, der Kern und die Chromatophoren dunkelblau, das Öl rot und der Elaioplast dunkelpurpurn gefärbt [2]). — In den fixierten Präparaten zeigen die Elaioplasten von Ornithogalum umbellatum ein (plasmatisches?) Stroma, das mit Jodjodkaliumlösung, oder mit Salpetersäure und dann Ammoniak, oder mit Millonschem Reagens die gewohnten Reaktionen der Eiweißkörper gibt. Die ölartigen Produkte der Elaioplasten stimmen in ihrem Verhalten weder mit Fetten, noch mit ätherischen Ölen völlig überein. Sie verhalten sich in ihren Reaktionen so wie die sog. Öltröpfchen in alten Chromatophoren. Eisessig verändert zunächst, wenn man ihn auf frische Objekte einwirken läßt, die aus den Elaioplasten austretenden Tröpfchen nicht, doch fangen diese nach 24 Std. an, kleiner zu werden. Konz. Lösung von Cuprum aceticum färbt und löst die Tröpfchen nicht, selbst nicht nach 3-tägiger Wirkung, und auch Kaliumbichromatlösung gibt keine Gerbstoffreaktion. Sie werden durch 50-proz. Kalilauge nicht verändert, wohl aber löst nach längerer Einwirkung gesätt. Ätzkalilösung in konz. Ammoniak einen Teil der ölartigen Tröpfchen auf. Es erfolgt deren Lösung in 50-proz. und in Alk. abs., auch in Schwefeläther, Chloroform, Xylol, Lavendelöl, doch wird, wie wir schon sahen, diese Löslichkeit durch Fixierung mit Osmiumsäure und Erwärmen der Präparate aufgehoben. Charakteristisch für die Elaioplasten ist auch ihre von uns schon festgestellte Färbung mit Alkanna. — Für das Studium dieser Reaktionen würde es sich übrigens empfehlen, nicht Ornithogalum, sondern eine Gagea-Art, etwa Gagea arvensis, den Feldgoldstern, zu wählen, weil deren Elaioplasten in ihrem Innern nur aus dem ölartigen Produkt bestehen. Es sind kugelige, von einer dünnen Plasmahülle umgebene Kugeln, die jede Zelle der Epidermis des Fruchtknotens in Einzahl neben dem Zellkern zeigt. — Sollten wir statt Ornithogalum umbellatum Ornithogalum caudatum, das in botanischen Gärten vielfach kultiviert wird, für unsere Untersuchung gewählt haben, so müßten uns in den Kernen der Fruchtknotenwandung auch die schön ausgebildeten, nadelförmigen Eiweißkristalle auffallen. Diese speichern begierig die meisten Farbstoffe, die man auf die Präparate einwirken läßt. Falls keine der bisher genannten Pflanzen für das Studium der Elaioplasten zur Verfügung steht, kann das Perianth von Funkia coerulea oder die Epidermis junger Blätter einer im Gewächshaus kultivierten Vanilla planifolia für die Untersuchung dienen.

---

[1]) Vgl. S. 84, 132.

[2]) J. H. Wakker, l. c. 1888, S. 480.

V. Abschnitt.

Gewebe. Wandverdickung. Reaktionen auf Zellulose, Zucker, Inulin, Gerbstoff. Strukturen der Zellwandung.

Reaktionen auf Zellulose, Pektinstoffe, Zucker, Nitrate und Nitrite, Ammoniak. Amide, Phosphate, Kalzium.

Untersuchungsmaterial.

Weiße Zuckerrübe. Reife Birne. Frische Dahlia-Knollen und solche, die mindestens 8 Tage in 50-proz. Alkohol verweilt haben. Stengel von Vinca major oder minor. Samen von Ornithogalum umbellatum oder einer anderen nahe verwandten Art. Dattelkerne.

Stengel von Helianthus tuberosus. Vergeilte, 8 Tage alte Lupinus-Keimlinge oder vergeilte Dahlia-Sprosse. Fleischige Euphorbien, etwa Euphorbia Caput Medusae. Grüne Stengel einer Rose. Galläpfel.

Wichtigste Reagentien und Farbstoffe.

Hämatoxylinlösung. — Chlorzinkjodlösung. — Essigsäure. — Schwefelsäure. — Jodlösung und verd. Schwefelsäure. — Kupfervitriollösung, Seignettesalzlösung und Ätznatron- bzw. Ätzkalilösung. — Diphenylamin in Schwefelsäure. — Nitrōn. — Salpetersäure. — Frisch dargestellte Kupferoxydammoniaklösung.

Wir untersuchen zunächst die Zuckerrübe (Beta vulgaris), und zwar eine Rasse mit weißer Wurzel. Ein kleines Gewebestück wird der fleischigen Wurzel entnommen und aus ihm ein mikroskopisches Präparat hergestellt. Wir wählen am besten einen radialen Längsschnitt zur Beobachtung, d. h. einen Schnitt, der parallel der Längsachse, in der Richtung des Radius, geführt worden ist. Dieser Schnitt trifft rechtwinklig die mit dem bloßen Auge sichtbaren, konzentrischen Ringe der Wurzel. Im Wasser untersucht, zeigt er mehr oder weniger rechtwinklige, mit wässriger, farbloser Flüssigkeit erfüllte Zellen. In den Wänden dieser Zellen bemerkt man wohl auch hier und dort größere und kleinere, hellere, runde bis ovale Flecke, welche Tüpfelflächen darstellen. In einzelnen Zellen ist der mit deutlichen Kernkörperchen versehene, von winzigen Leukoplasten umgebene Zellkern zu sehen, auch ein dünner Wandbeleg aus Zytoplasma. Die Interzellularräume sind meist mit schwarz erscheinender Luft erfüllt. An einzelnen Stellen der Präparate werden die Parenchymzellen schmäler; sie strecken sich parallel zur Längsachse der Wurzel; zwischen ihnen bemerkt man lange Röhren, die sich teilweise mit Luft angefüllt haben und eine charakteristische Verdickung ihrer Wand aufweisen. Diese Röhren sind Gefäße. Die Verdickung ihrer Wand ist eine getüpfelt netzförmige, d. h. die Wand zeigt netzförmig verbundene Verdickungsleisten, zwischen denen unverdickte Stellen liegen. Diese unverdickten Stellen oder Tüpfel sind quer zur Längsrichtung

der Gefäße gestreckt. Wo der Schnitt ein Gefäß geöffnet hat, kann man in diesem von Zeit zu Zeit ringförmige Verdickungen, die in sein Inneres vorspringen, bemerken. Es sind das diaphragmaartige Reste ursprünglich vollständiger Scheidewände, und es ist an diesen Resten noch zu erkennen, daß das Gefäß aus einer Zellreihe hervorging. Die in den Gefäßen vorhandene Luft stört oft die Beobachtung; man entferne sie mit einer Luftpumpe[1]). Wer nicht über eine Luftpumpe verfügt, der suche die Luft durch Einlegen des Präparats in frisch ausgekochtes Wasser zu entfernen. Rascher wird dieses zu erreichen sein durch kurzes Eintauchen des Präparats in Alkohol, der wegen der geringen Kohäsion seiner Teilchen einen hohen Grad von Benetzungsvermögen und damit in besonders günstigem Maße die Fähigkeit besitzt, aus engen Räumen die Luft zu verdrängen[2]). Freilich wird der Inhalt der Zelle durch den Alkohol getötet, was aber für den Zweck der vorliegenden Untersuchung gleichgültig ist.

Stellenweise trifft man in den Präparaten vereinzelte Zellen, die dicht mit kleinen, klinorhombischen Kristallen erfüllt sind und durchweg fast schwarz erscheinen. Diese Kristalle bestehen aus Kalziumoxalat. Um dies nachzuweisen, lassen wir Essigsäure auf sie einwirken und stellen fest, daß sie in dieser unlöslich sind. Fügen wir zu einem anderen Präparat Schwefelsäure hinzu, so werden die Kristalle alsbald aufgelöst. Die gebildete Gipsmenge ist hier so gering, daß sie in der umgebenden Flüssigkeit gelöst bleibt.

Schöner und deutlicher treten uns die Strukturverhältnisse der Zellen an der Zuckerrübe entgegen, wenn wir die Schnitte mit einer verd., wässr. Hämatoxylinlösung färben. Um dieses zu erreichen, muß man die Schnitte eine Zeitlang in einer mit dieser Lösung gefüllten Uhrschale liegen lassen. Alle Zellwände sind alsdann violett gefärbt, mit Ausnahme der stark verholzten Wände der Gefäße. An den Parenchymzellen zeigen sich auch die Tüpfelflächen entweder gar nicht tingiert oder nur von einem schwach gefärbten Gitterwerk überzogen; sie treten daher deutlicher hervor. Diese Tüpfelflächen stellen die unverdickt gebliebenen Stellen der auch sonst nur schwach verdickten Zellwände dar. Die unverholzten Zellwände, die sich hier mit Hämatoxylin gefärbt haben, sollen diese Färbung den Pektinstoffen verdanken, mit denen die Zellulose vermengt ist[3]). Wird ein Schnitt der Zuckerrübe in Chlorzinkjodlösung (vgl. Reg. IV) gelegt, so färbt er sich zunächst an den Rändern, dann langsam gegen seine Mitte hin vorschreitend violett. Diese Färbung weist auf die Anwesenheit von Zellulose hin und würde, wenn es sich um reine Z e l l u l o s e handelte, blau ausfallen. Hier liegt aber ein Gemisch von Zellulose mit Pektinstoffen vor, denen eine derartige Färbung nicht zukommt und die es veranlassen, daß die durch Chlorzinkjod bedingte, für Zellulose charakteristische Blaufärbung in schmutzigviolett verändert erscheint. Die Tüpfelflächen bleiben wiederum ungefärbt und zeigen sich meist nur schwach violett gegittert. Die verholzten Verdickungsschichten der Gefäße färben sich gelbbraun. Wurde zuvor durch längere Einwirkung von Kupferoxydammoniak

[1]) Vgl. Einleitung S. 44 ff.

[2]) Vgl. H. Burgeff, Die Wurzelpilze der Orchideen. Jena 1909, S. 152.

[3]) L. Mangin, Compt. rend. Acad. Paris, Juli 1888 u. Journ. d. Bot., 1892, S. 238 ff.

die Zellulose aus den Zellwänden entfernt, so tritt die Zellulosereaktion nicht ein.

Allerdings tritt die Färbung der Zellulose mit Chlorzinkjod nicht immer klar zutage. Es hängt das mit dem jeweiligen Wassergehalt der Zellulose, der Konzentration und Menge des Jodkaliums in dem Gemisch und der Quantität des zugesetzten Jods zusammen. Zuverlässigere Ergebnisse erzielt man, wenn man die Präparate einige Sek. in einen Tropfen Jodjodkalium (1 T. Jod und 1 T. Jodkalium auf 100 T. Wasser) hält und dann in eine starke Lösung von Zinkchlorid (etwa 2 T. Zinkchlorid auf 1 T. Wasser) überträgt, in der sie sich nach 1—1 $^1/_2$ Min. blau färben. Sollte die Farbe nicht genügend kräftig sein, so fügt man dem Präparat noch eine kleine Menge Jodjodkalium zu[1]).

Zum Vergleich nehmen wir auch die Zellulosereaktion mit Jod und Schwefelsäure vor. Der Schnitt wird erst mit Jodlösung, oder Jodjodkaliumlösung, am besten mit einer wässr. Lösung von ½-proz. Jod und 1½-proz. Jodkalium imprägniert, und hierauf schwach verd. englische Schwefelsäure (2 T. Schwefelsäure, 1 T. Wasser, dem Volumen nach) zugesetzt. Es beginnt sofort von den Rändern aus sich die Einwirkung zu äußern; der Schnitt nimmt eine schöne blaue Färbung an. Die Tüpfelflächen bleiben auch diesmal ungefärbt; die größeren zeigen ein blaues Gitter.

Als wertvolle Zellulose-Reagentien haben sich Chlorkalziumjodlösung oder rauchende Jodjodwasserstoffsäure erwiesen[2]). Die Chlorkalziumjodlösung stellt man sich in der Weise her, daß man zu 10 ccm einer konz. Chlorkalziumlösung etwa 0,5 g Jodkalium und 0,1 g Jod zusetzt und die Lösung nach schwachem Erwärmen durch Glaswolle filtriert. Da diese Lösung nur sehr geringe Jodmengen enthält, so fügt man zweckmäßig von Zeit zu Zeit noch weiter Jod zu, bis die Flüssigkeit eine dauerhafte Gelbfärbung erlangt hat. Die Lösung ist im Dunkeln aufzubewahren. Nach Anwendung dieses Jodgemisches färben sich die Zellulosebestandteile der Präparate zunächst rosa, um allmählich in Violett überzugehen. Die Färbung hält sich oft wochenlang. Um die Reaktion mit Jodjodwasserstoffsäure, einer Lösung von 0,5 g Jod in 25 g reiner, rauchender, in frischem Zustand farbloser Jodwasserstoffsäure, vorzunehmen, entwässert man zunächst die Schnitte durch Alkohol, saugt die überschüssige Flüssigkeit mit Fließpapier ab und bringt auf den Schnitt 2—3 Tropfen des Reagens, läßt es $^1/_2$ Min. lang einwirken, entfernt den Überschuß mit Fließpapier und benetzt das Präparat mit wässr., chloralhydratgesätt. Glyzerin oder Milchsäure. Die Zellulose-Membranen werden augenblicklich intensiv blau oder violett gefärbt, wobei die Färbung je nach der Menge des in der Lösung verbliebenen Jod bräunlich überdeckt erscheint[3]).

Die Zellulose[4]) ist ein stärkeähnliches Kohlenhydrat. Sie stellt den wichtigsten Bestandteil pflanzlicher Membranen dar und geht wahrscheinlich

[1]) Nowopokrowsky, Bot. Labor. des Donschen Polytechn. zu Nowotscherkassk, Arbeit Nr. 6, 1911, S. 116.

[2]) L. Mangin, Bull. de la soc. bot. de France, T. XXXV, 1888, S. 421. A. Zimmermann, Die botanische Mikrotechnik. 1892, S. 138 bzw. 2. Aufl., herausgegeben von H. Schneider, Jena, 1922, S. 258ff. und L. Gaucher, Étude générale de la membrane cellulaire chez les végétaux. 1904, S. 135.

[3]) L. Mangin, Compt. rend. Soc. de Biol., 10. sér., 1897, T. IV, S. 419, auch in L. Gaucher, l. c. 1904, S. 135.

[4]) Vgl. dazu. u. a. C. G. Schwalbe, Die Chemie der Zellulose. 2. Aufl., Berlin, 1918; vgl. ferner, wie auch zu den übrigen Membranstoffen die zusammenfassende Darstellung von W. Gleisberg, Beih. z. bot. Zentralbl., 1. Abt., Bd. XXXVIII, 1921, S. 242 ff.

nur den höheren Pilzen und einigen niederen Algen ab. Doch ist sie selbst in jungen Zellhäuten nicht allein vertreten, vielmehr mit Pektinverbindungen und anderen Stoffen vermischt[1]). Wird ein Schnitt durch einen krautartigen Stengelteil, Blattstiel oder Wurzelteil für einige Zeit in Kupferoxydammoniak gelegt[2]), dann vorsichtig mit Ammoniak, hierauf mit Aq. dest. ausgewaschen, so findet man im Innern der Zellen entweder Sphärite (Sphärokristalle) oder dendritische Kristallmassen. Diese stellen die durch das Kupferoxydammoniak aus den Zellwänden zunächst herausgelöste, während des Auswaschens auskristallisierte Zellulose dar[3]). Sie treten schärfer hervor, wenn man Chlorzinkjodlösung oder Kongorot zusetzt, wobei sie sich sofort blau bzw. rot färben. Die Kristalle lösen sich nicht in Alkalien und verd. Säuren; sie lösen sich hingegen in Kupferoxydammoniak, erweisen sich somit bei solcher Behandlung als Zellulose. Um zu erreichen, daß derartige Versuche gut ausfallen, empfiehlt es sich, stärkefreie Gewebe für die Beobachtung zu wählen, damit sich gleichzeitig färbende Stärkemassen nicht die Klarheit der Bilder stören. Außerdem ist es auch gut, den plasmatischen Inhalt der Zellen zunächst mit JAVELLEscher Lauge zu entfernen. So behandelte Schnitte müssen aber, bevor sie in Kupferoxydammoniak gelangen, auf das sorgfältigste mit Wasser ausgewaschen werden. Die Schnitte dürfen weder zu dick, noch zu dünn sein. Wählt man etwa Schnitte durch die Rübe für die Beobachtungen aus, so genügt für sie ein fünfstündiger Aufenthalt in Kupferoxydammoniak; für Rhizome, Blattstiele muß diese Einwirkung länger dauern, meist nicht weniger als 12 Std. Man gießt das Kupferoxydammoniak dann vorsichtig ab, füllt Ammoniak, am besten 10-proz., ein und läßt $^1/_2$ Std. ruhen. Hierauf ersetzt man das Ammoniak durch neues und wiederholt diesen Wechsel alle 10 Min., bis die Schnitte farblos werden. Dann wäscht man einigemal mit Aq. dest. aus. Hat man nicht die Absicht, zu färben, sondern nur Chlorzinkjodlösung anzuwenden, so empfiehlt es sich, das Auswaschen mit verd. Essigsäure oder verd. Salzsäure vorzunehmen, wodurch die Schnitte aufgehellt werden. Die Färbung mit Kongorot schlägt dann aber nicht an.

Um besonders charakteristische mikrochemische Reaktionen der Zellulose zu erlangen, gilt es, sie zunächst in Hydrozellulose, d. h. Amyloid, überzuführen[4]). Dies geschieht durch Einwirkung von entsprechend konz. kalter Schwefelsäure oder von Phosphorsäure oder von Chlormetallen. Doch muß darauf geachtet werden, daß der richtige Augenblick der Einwirkung auf die Zellulose getroffen werde; mit Säuren wird er oft überschritten, mit Chlormetallen nicht erreicht. Sicherer ist der Erfolg bei Einwirkung kaustischer Alkalien, die zu demselben Ergebnis führt. Man behandelt alsdann die Gewebe mit einer gesätt., alkohol. Lösung von Kalium- oder Natriumhydroxyd, führt sie dann in Alk. abs. über und kann nach erfolgter Neutralisation, oder evtl. auch ohne eine solche, färben. Ist die Zellulose in Amyloid übergeführt, so färbt sie sich mit Jod in Gegenwart von Säuren oder bestimmten Salzen blau. Die gebräuchlichen Reagentien bestehen aus einem Gemisch von Jod mit Säuren oder mit Chloriden, so daß die

[1]) L. MANGIN, Journ. de Bot., Bd. VII, 1893, S. 336. Vgl. auch die Zusammenstellung in H. MOLISCH, Mikrochemie der Pflanze. 2. Aufl. Jena 1921, S. 332 ff.; ferner FR. CZAPEK, Biochemie der Pflanzen. 2. Aufl., 1. Bd., 1913, S. 629 ff., bzw. 3. Aufl., 1922, Ebenda.

[2]) Vgl. die Darstellung S. 175.

[3]) E. GILSON in der Revue „La Cellule", T. IX, 1893, S. 403.

[4]) L. MANGIN, Compt. rend. Acad. Paris, 28. Dez. 1891.

Überführung in Amyloid und die darauf folgende Färbung sich zugleich vollziehen können; so bei Anwendung des Gemisches von Jod und Schwefelsäure bzw. Jodwasserstoffsäure, oder von Chlorzinkjod, oder von Aluminiumchlorid und Jod, oder von Chlorkalziumjod, oder von Jodzinnchlorid, oder von Jodphosphorsäure[1]).

So ist auch die Affinität der Zellulose zu Farbstoffen[2]) am stärksten, wenn sie unter dem Einflusse von Säuren oder besser noch von kaustischen Alkalien in Amyloid übergeführt wurde. Sie hält alsdann saure Farbstoffe mit einer je nach der Natur der letzteren verschiedenen Energie fest. Es sind das Verbindungen aus der Gruppe der Azofarbstoffe. Nach ihrer Affinität zu der Zellulose lassen sich diese Azofarbstoffe in drei Gruppen trennen. Die Farbstoffe der ersten Gruppe zeigen keinerlei Affinität zu der Zellulose, so Orange I, II und III, Naphtorubin, Krozeïn, Ponceau, Toluidin, Xylidin. Die Farbstoffe der zweiten Gruppe färben die Zellulose in einem sauren oder neutralen Bad; von diesen seien genannt: Orseillerot (rouge d'orseille A), Azorubin, Brillantkrozeïn, Naphtolschwarz. Die Farbstoffe der dritten Gruppe, wie Kongorot, Benzopurpurin, Benzoazurin, Deltapurpurin, Brillantpurpurin, Heliotrop, Azoblau, Azoviolett, färben die Zellulose energisch in alkalischem Bad, womit jedoch nicht gesagt ist, daß sie als spezifische Zellulose-Farbstoffe zu gelten haben. Mit Kongorot z. B. sollen sich auch Pektinverbindungen, Kallose, verholzte und verkorkte Zellwände, ferner Hemizellulosen färben[3]).

Ganz anders verhalten sich die in der Zellwand häufig vorkommenden Pektinverbindungen, Stoffe von gallertartiger oder schleimiger Konsistenz, oder solche, die leicht in derartige Stoffe übergehen können[4]). Sie stellen hochmolekulare, kompliziert gebaute Kohlenhydrate dar[5]), deren Konstitution noch weiterer Klärung bedarf. Eindeutige Reagentien auf Pektine sind bisher noch nicht gefunden worden. Ihre Löslichkeitsverhältnisse und ihre Farbenreaktionen geben jedoch bis zu einem gewissen Grade[6]) Anhaltspunkte, weshalb wir auf sie hier noch eingehen wollen.

Die Pektinverbindungen verhalten sich den Farbstoffen gegenüber wie Säuren. Mit sauren Farbstoffen tingieren sie sich nicht und bleiben daher farblos in jenen zuvor genannten Farbstoffen, in denen die Zellulose sich färbt. Dagegen werden sie von basischen Farbstoffen tingiert, die man ihnen in Form von schwefelsauren oder salzsauren Salzen oder Jodverbindungen in neutralem Bad bietet. Die Pektinverbindungen lassen sich nur in neutralem oder ganz schwach (mit $^1/_2$- bis höchstens 1-proz. Essigsäure) angesäuertem Bad färben. Es empfiehlt sich, evtl. die Schnitte in 3-proz. Essigsäure auszuwaschen, dann in Wasser abzuspülen und hierauf erst zu färben. Selbst schwache Säuren, Glyzerin und Alkohol entfärben rascher oder langsamer die Pektinverbindungen. Außer den Pektinverbindungen

[1]) Vgl. über diese Stoffe Reg. IV.

[2]) Nach L. MANGIN, Journ. de Bot., Bd. VI, 1892, S. 206, 235, 363. Ferner L. GAUCHER, l. c., 1904, S. 134 ff.

[3]) E. HEINRICHER, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. V, 1888. S. 343; J. CHALON, Bull. Soc. Bot. d. Belgique, Bd. LXXXVII, 1898, S. 79; A. MEYER, Erstes mikroskopisches Praktikum, 3. Aufl., 1915, S. 211. Betr. des eventuellen Versagens der Färbung, vgl. A. DORNER, Zentralbl. f. Bakteriol. usw., 2. Abt., Bd. LVI, 1922, S. 14 ff.

[4]) Vgl. H. MOLISCH, Mikrochemie der Pflanze, 2. Aufl., Jena 1921, S. 350.

[5]) Näheres darüber bei F. EHRLICH, Chemiker-Zeitung, XLI. Jahrg., 1917, S. 197.

[6]) Vgl. zu dieser Einschränkung A. MEYER, l. c., 1915, S. 211; dort weitere Literatur.

werden auch der protoplasmatische Zellinhalt, die verholzten, verkorkten und kutinisierten Membranen vielfach mit gefärbt; daher eignen sich nur bestimmte Farbstoffe und diese auch nur bedingungsweise zu einer Färbung der Pektinverbindungen; es sind das besonders Safranin, Methylenblau und kristallisiertes Naphtylenblau R. Safranin färbt die plasmatischen Inhaltskörper der Zelle, ferner die verholzten Wände, die verkorkten und die kutinisierten Häute kirschrot, während die Pektinverbindungen damit eine orangerote Färbung annehmen. Das Methylenblau färbt die plasmatischen Körper und die verholzten Wände schön blau, die Pektinverbindungen dagegen violettblau. Besonders wird dieser Farbenunterschied kenntlich, wenn man als Lichtquelle für das Mikroskop das gelbe Licht einer Naphtalinlampe benutzt. Läßt man nach vollzogener Färbung mit Safranin oder Methylenblau eine saure Flüssigkeit (Essigsäure, Milchsäure) in Überschuß unter das Deckglas treten, so bleiben die plasmatischen Körper sowie die verholzten Membranen gefärbt, während die Pektinverbindungen sich entfärben. Auch empfiehlt es sich, als Tinktionsmittel ein Gemisch von je 1 g Naphtylenblau R in Kristallen und Säuregrün JEEE (Poirier) gelöst in 100 ccm Wasser anzuwenden. Dieses Farbengemisch färbt grün die plasmatischen Körper, die verholzten und die kutinisierten Wände, während die Pektinverbindungen sich violett tingieren. Die Färbungen der verholzten und kutinisierten Wände werden besonders schön, wenn man die Schnitte zuvor mit Kalilauge oder Javellescher Lauge behandelt hat, und halten sich eine Zeitlang in Dauerpräparaten, wenn man als Einschlußflüssigkeit 2-proz. Borsäure wählt. Solche Präparate müssen mit einem Gemisch von Vaselin und Paraffin, das man warm mit dem Pinsel aufträgt, verschlossen werden.

Durch Neutralviolett[1]) lassen sich schöne, differente Färbungen in pektinhaltigen Geweben bewirken. Dieser Farbstoff tingiert nämlich die Pektinverbindungen rotbraun, Holz und Kork dunkelviolett. Zellulose und Kutin bleiben ungefärbt, ebenso Kallose. Man gebraucht zur Tinktion wässrige Lösungen. In einer Lösung von $^1/_{10000}$ färben sich die Schnitte in 3—5 Min.; in einer von $^1/_{5000}$ geht die Färbung viel schneller vor sich. Die Lösungen halten sich unbegrenzt, doch müssen sie etwas sauer sein, da sie bei Gegenwart von Alkalien sich zersetzen und alsdann braun werden. In Wasser, verd. Glyzerin und Kanadabalsam entfärben sich die Schnitte nicht. In Alkohol verlieren sie im Verlauf einiger Stunden ihre Farbe.

Zum Nachweis von Pektinstoffen und Zellulose nebeneinander in den pflanzlichen Zellhäuten ist besonders die Behandlung der Präparate mit Delafields' Hämatoxylin, das als eine ausgezeichnete Spezialfarbe für Pektinstoffe angegeben wurde, kombiniert mit dem Gilsonschen Verfahren zur Auskristallisierung der Zellulose (S. 172) und Färbung mit Kongorot empfohlen worden[2]).

Als ein wertvolles Mittel zur Färbung der Pektinverbindungen, wenn auch nicht vom Wert eines speziell für die Pektinverbindungen charakteristischen Reagens, stellte sich auch das im Dunkeln aufzubewahrende Rutheniumrot, ammoniakalisches Rutheniumsesquichlorid, heraus[3]), ein brillanter, roter

---

[1]) M. Godfrin, Bull. de la soc. Bot. de France, T. XLVI, 1899, S. 324.

[2]) E. Carano, Annali di Bot., Bd. VII, 1909, S. 707.

[3]) Vgl. L. Mangin, Compt. rend. Acad. Paris, 20. März 1893, und Bull. de la soc. Bot. de France, T. XLI, 1894, S. XL.

Farbstoff, der in Wasser, konz. Chlorkaliumlösung, Alaunlösung löslich, dagegen in Glyzerin, Alkohol und Nelkenöl unlöslich ist. Daher lassen sich die durch Rutheniumrot gefärbten Präparate aufbewahren, ja entwässern und in Kanadabalsam einschließen. Dem Rutheniumrot kommt auch die wichtige Eigenschaft zu, pektoseartige Gummisubstanzen und Schleime zu färben, so den Schleim der Samen von Linum, von Plantago, Psyllium, von Cydonia, Malvaceen, Tiliaceen, Gummi von Cycadeen, Cerasus, Amygdalus, Prunus, Acacia, Astragalus gummifer, die Gallertscheiden bestimmter Algen (Zygnema, Gloeocapsa, Nostoc), den Schleim bestimmter Ascomyceten (Ascobolus, Bulgaria inquinans), wobei jedoch zu beachten ist, daß sich u. a. ebenfalls die Glykogene, deren Vorhandensein im Zellinhalt der Pilze vielfach festgestellt worden ist, mit Rutheniumrot lebhaft färben [1]. Hingegen färbt Rutheniumrot nicht die zelluloseartigen Schleime, wie den als Salep bezeichneten Schleim von Orchideenknollen, auch nicht die Kallose und ebensowenig die kalloseartigen Schleime, wie jene der Kallusplatten in Siebröhren. Gefärbt werden hingegen in manchen Fällen durch Rutheniumrot auch kutinisierte Membranen, doch nicht die Kutikula; ferner wie eben angegeben, das Glykogen im Plasma verschiedener Pilze und weiter das Isolichenin in bestimmten Flechtenmembranen [2].

Um festzustellen, daß in einem gegebenen Fall eine bestimmte Färbung wirklich den Pektinverbindungen angehört, behandelt man die betreffenden Schnitte mehrere Tage lang mit Kupferoxydammoniak. Die Kupferoxydammoniaklösung muß frisch zubereitet sein, am besten durch Übergießen von Kupferspänen mit konz. Ammoniak. Man benutzt einen mit eingeriebenem Glasstopfen verschließbaren Kolben, gießt so viel Ammoniak hinein, daß die Kupferspäne befeuchtet sind, und läßt durch Neigung des Gefäßes die Flüssigkeit wiederholt über die Späne fließen. Die Lösung ist gut, wenn sie Baumwolle löst [3]. Man bewahrt sie bei Abschluß von Licht und läßt sie vor der Verwendung erst wieder etwa zweimal über Kupferspäne fließen. Die Lösung, in welche die Schnitte gelegt werden, ersetzt man möglichst durch frische. Aus dünnen Schnitten pflegt, wenn sie einem weichen Gewebe angehören, nach 3—4 Tagen alle Zellulose entfernt zu sein; auf verholzte Gewebe muß die Einwirkung länger dauern. Ist die Wirkung weit genug fortgeschritten, so verdünnt man das Kupferoxydammoniak mit reinem Wasser, wäscht dann mit Wasser, das 3—5-proz. Essigsäure enthält, aus und beseitigt so alles Kupfersalz. Die Schnitte müssen, um nicht auseinander zu fallen, sehr vorsichtig behandelt werden. Ihre Struktur haben sie behalten, doch ist der Zellinhalt vorwiegend verschwunden. Man befeuchtet die Schnitte mit einer Jodlösung, trocknet mit Fließpapier ab und fügt einen Tropfen konz. Phosphorsäure hinzu. Die Membranen färben sich gelb, nicht blau oder violett; allenfalls tritt in verholzten Wänden noch Blau- oder Violettfärbung, somit Zellulosereaktion, ein. Wenn man auf die mit Kupferoxydammoniak behandelten und entsprechend ausgewaschenen Schnitte Safranin oder Methylenblau einwirken läßt, so sieht man die Membranen sich in der für Pektinverbindungen charakteristischen Weise färben. Durch das Kupferoxydammoniak sind die Pektinstoffe vorwiegend in Pektinsäure übergeführt worden, so daß solche Membranen, wenn man sie mit Ammonoxalat behandelt, sich

[1] Vgl. F. TOBLER, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXIII, 1906, S. 182 ff.
[2] F. TOBLER, Ebenda.
[3] Vgl. auch Reg. IV SCHWEIZERS Reagens.

langsam zersetzen und schließlich auflösen. Ebenso lösen sie sich unmittelbar in ammoniakalischem Wasser auf, und aus dieser Lösung läßt sich mit Essigsäure ein gallertartiger Niederschlag von Pektinsäure fällen, den Safranin und Methylenblau intensiv färben. — Umgekehrt kann die Zellulose in den Membranen erhalten bleiben und die Pektinverbindungen lassen sich entfernen, wenn man dünne Schnitte $^1/_2$ Std. lang in 2-proz. Salzsäure kocht, auswäscht, dann lange Zeit die desorganisierten Gewebe in einer Lösung von 2-proz. Kalilauge kocht und wiederum auswäscht. Mit Jodphosphorsäure behandelt, nehmen die Wände der Zellen jetzt intensiv blaue Färbung an, denn die meiste Zellulose blieb erhalten, während die Pektinstoffe gelöst wurden. In Methylenblau bleiben hingegen die Membranen jetzt farblos. Ähnliche Reaktionen wie die Pektinverbindungen gibt übrigens auch die Gelose, die in den Geweben vieler Algen enthalten ist. Sie färbt sich gelb mit Jod und verhält sich auch meist ähnlich den Pektinverbindungen, doch zeichnet sie sich als solche durch ihre vollkommene Löslichkeit in 50-proz. Salzsäure und ihre Unlöslichkeit in Alkalien aus. Eine größere Anzahl von Schleimen und Gummiarten fixieren auch die basischen Farbstoffe; doch da sie stark quellen und sich manchmal auch auflösen, so ist ihre Färbung meist sehr schwach. Man muß, um letztere zu erlangen, derartige Gewebe vor der Färbung mit dreibasischem Bleiazetat härten. Die Leichtigkeit, mit der die Pektinverbindungen gallertartig werden, bedingt es, daß sie bei der Bildung der Interzellularen und bei der Desorganisation der Gewebe eine hervorragende Rolle spielen.

Ihre Eigentümlichkeit, Metalle in hervorragenden Mengen zu speichern, wird von Devaux[1]) zum Nachweis von Pektinverbindungen benutzt. Das Verfahren ist folgendes: Die zu untersuchenden Schnitte werden, nachdem sie in Aq. dest. abgewaschen sind, in eine Lösung von Eisenchlorid gebracht. Nach einiger Zeit werden sie zunächst in Aq. dest. und dann in Aq. dest., zu dem 2-proz. Essigsäure beigegeben wird, gründlich abgespült. Nach darauffolgendem, kurzem Aufenthalt in einer Ferrozyankalilösung nehmen die pektinhaltigen Membranen eine intensive Blaufärbung an. Rotfärbung kann erzielt werden, wenn man statt des Eisensalzes Kupferazetat anwendet. Die Präparate können, nachdem sie in Wasser, dem man zweckmäßig ein paar Tropfen Salzsäure zusetzt, abgespült wurden, in Glyzerin-Gelatine oder, nach Entwässerung, in Kanadabalsam eingeschlossen werden und sind unbegrenzt haltbar. Dasselbe Verfahren kann auch in Kombination mit einer anderen Färbung zu Doppelfärbungen benutzt werden (vgl. Abschn. VIII dieses Praktikums)[2]).

Wir stellen uns weiterhin ein Präparat aus einer reifen Birne (Pirus communis) her. In dem saftigen Fruchtfleisch tritt uns auch hier ein regelmäßiges, dünnwandiges Parenchym aus großen, an den Ecken mehr oder weniger abgerundeten Zellen entgegen. Diese Zellen führen farblosen Zellsaft, einen sehr reduzierten Plasmaschlauch und einen Zellkern. Zerstreut im Gewebe findet man Nester stark verdickter Steinzellen (Fig. 87). Sie bilden die sog. Steine der Birne. Diese Zellen sind ausgezeichnet durch die beträchtliche Dicke ihrer Wand und durch die zahlreichen, feinen, verzweigten Porenkanäle, welche diese Wände durchsetzen. Die Verzweigung der Porenkanäle kommt dadurch zustande, daß sie in dem Maß, als das Lumen der

---

[1]) Devaux, Proc. verb. Soc. Linn. de Bordeaux, Febr. u. April 1901.

[2]) A. v. Tompa, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XX, 1903, S. 24.

Zelle enger wird, sich vereinigen, und so in das Zellumen münden. Wo zwei verdickte Zellen sich berühren, stellt man fest, daß die Porenkanäle aufeinander treffen. Die Steinzellen führen in ihrem hier vorliegenden Zustand keinen lebenden Zellinhalt mehr, sondern nur noch wässrige Flüssigkeit. Sie stellen somit nur noch tote Zellhüllen vor. Nach Behandlung mit Chlorzinkjodlösung nehmen die dünnen Parenchymzellen des Birnenfleisches allmählich, doch noch langsamer als bei der Zuckerrübe, violette Färbung an, die stark verdickten werden gelbbraun. Letztere sind verholzt; man rechnet sie wegen ihrer starken Verdickung und Verholzung zu dem „Sklerenchym". Die Strukturverhältnisse der verdickten Zellen werden durch die Chlorzinkjodbehandlung besonders deutlich.

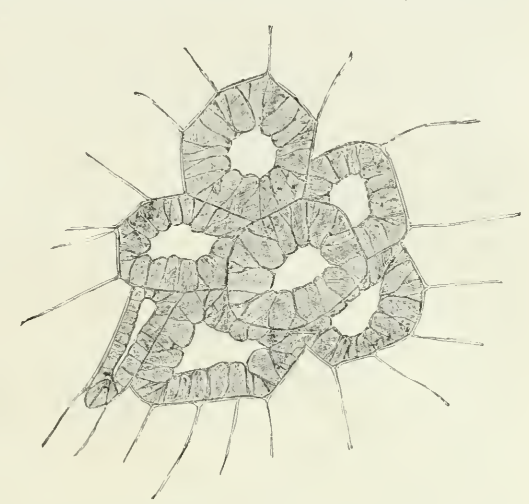


Fig. 87. Aus dem Fruchtfleisch der Birne. Stark verdickte Zellen mit verzweigten Porenkanälen, von dünnwandigen Parenchymzellen umgeben. Vergr. 240.

G. Haberlandt vergleicht derartige mehr oder weniger isodiametrische Sklerenchymzellen in bezug auf ihre Wirkungsweise mit den Sandkörnern, die der Maurer dem weichen Lehm beimischt, um dessen Zusammenhalt zu erhöhen, oder dem Glaspulver, das dem Guttapercha eingestreut wird, damit dieses nicht so leicht zusammengedrückt werde[1]). Nach H. Potonié stellen die um das Kerngehäuse besonders gesammelten Steinzellgruppen die Rudimente einer bei den Vorfahren unserer Birnen vorhanden gewesenen Steinhülle dar, die ebenso, wie in anderen Fällen die um Samen entwickelten Steinschichten, zum Schutz der Samen diente[2]).

Wir wollen das Fruchtfleisch der Birne verwenden, um mikrochemische Zuckerreaktionen kennenzulernen. Am häufigsten wird die Fehlingsche Lösung hierzu benutzt. Wir bereiten uns drei wässrige Lösungen, von denen die eine im L 35 g Kupfervitriol, die andere 173 g Seignettesalz (weinsaures Natronkali), die dritte 120 g Ätznatron enthält[3]). Je 1 Vol. dieser Lösungen muß mit 2 Vol. Wasser für den Gebrauch zusammengemischt werden. Die getrennten Lösungen lassen sich aufbewahren, während sie vermischt sich mit der Zeit verändern. Die Reaktion nehmen wir direkt auf dem Objektträger vor. Wir bringen zu diesem Zweck einen größeren Tropfen Aq. dest. und drei kleinere Tropfen der vorbereiteten Lösungen auf ihn und vermischen sie mit einem Glasstab. Die Schnitte, an denen

[1]) G. Haberlandt, Physiologische Pflanzenanatomie, 5. Aufl., 1918, S. 151.

[2]) H. Potonié, Grundlinien der Pflanzenmorphologie im Lichte der Palaeontologie, 1912, S. 9.

[3]) G. Dragendorff, Die qual. u. quant. Analyse v. Pflanzen u. Pflanzenteilen, 1882, S. 70.

wir die Reaktion vornehmen wollen, dürfen nicht zu dünn sein, sollen wenigstens zwei Lagen unversehrter Zellen enthalten und selbstverständlich nicht zuvor in Wasser gelegen haben. Der Schnitt wird daher erst nach Vorbereitung der FEHLINGschen Lösung hergestellt, unmittelbar in sie gelegt und mit Deckglas bedeckt. Hierauf erwärmen wir den Objektträger über einer Flamme, bis sich Blasen in der Flüssigkeit zu bilden anfangen. Der Schnitt hat sich alsdann auch schon von reduziertem Kupferoxydul rot gefärbt. — Man kann die ganze Reaktion vereinfachen, indem man die Schnitte zunächst in eine konz. wässrige Kupfervitriollösung legt, sie nach einiger Zeit in Aq. dest. schnell abspült und in eine siedende Lösung von 10 g Seignettesalz und 10 g Kalihydrat in 10 ccm Wasser eintaucht[1]). Das Ergebnis der Reaktion lehrt, daß in den Zellen der Birne eine die alkalische Kupferoxydlösung reduzierende Substanz vorhanden ist, und zwar wohl Traubenzucker und Fruchtzucker, die in den meisten süßen Früchten vertreten sind und als Glukosen oder Glykosen zusammengefaßt werden, in diesem Fall vornehmlich Fruchtzucker oder Lävulose (Fruktose). Neben diesen Zuckerarten enthält die Birne stets eine gewisse Menge Rohrzucker, dessen Reaktion durch jene der reduzierenden Zuckerarten verdeckt wird. Im übrigen darf nicht aus dem Auge verloren werden, daß wie Glykosen auch eine Anzahl anderer Körper reduzierend auf alkalische Kupferoxydlösung einwirken.

Der Rohrzucker reduziert, wie wir an einem Schnitt aus der Zuckerrübe feststellen können, alkalische Kupferoxydlösung nicht. In derselben Weise in der FEHLINGschen Lösung erhitzt, wie es zuvor mit dem Birnenschnitt geschah, veranlaßt er nicht die Bildung eines Niederschlags in den Zellen, zeigt vielmehr unter dem Mikroskop nur eine blaue Färbung ihres Zellsafts. Wenn man den Schnitt länger in der FEHLINGschen Lösung kocht, so beginnt auch er sich von der Oberfläche aus mennigrot zu färben. Der Rohrzucker wird dann nämlich infolge der stark alkalischen Reaktion der Lösung invertiert und gibt demzufolge ebenfalls den Oxydulniederschlag. Unter dem Mikroskop zeigen die peripherischen Zellagen alsdann mennigrote Körnchen, während, falls die Einwirkung nicht zu lange andauert, die inneren Zellen noch immer nur blaue Flüssigkeit führen.

Bestimmte Vorteile zum Nachweis von Glykose gewährt die von LIDFORSS empfohlene alkohol. Kupferlösung[2]). Sie wird bereitet durch Zusatz von ein wenig Essigsäure und Glyzerin zu einer alkohol. Lösung von Kupferazetat. Zu dieser wird ein kleines Volum alkohol. Natronlauge hinzugefügt. Man legt das zu untersuchende Objekt eine Zeitlang in diese Lösung und kocht auf, am besten in einem Wasserbad. Da die Glykose in Alkohol unlöslich ist, so bildet sich der Kupferoxydulniederschlag in jenen Zellen, die wirklich die Glykose enthalten. Die Reaktion steht aber der FEHLINGschen an Empfindlichkeit nach. Manche die FEHLINGsche Lösung reduzierenden Körper, wie bestimmte Gerbstoffe und Glykoside, greifen diese Lösung nicht an. Eine größere Bedeutung ist diesem Umstand nicht beizulegen, wohl aber jenem, daß eine große Anzahl reduzierender Nicht-Glykosen in Alkohol sehr leicht löslich sind, den Pflanzenteilen somit

[1]) A. MEYER, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. III, 1885, S. 332.
[2]) B. LIDFORSS, Lunds Univ. Årsskr., Bd. XXVIII, 1892.

entzogen werden, während die Glykose in ihnen bleibt. — FR. HAGEN[1]), dem es nach den Vorschriften von LIDFORSS nicht gelang, eine klare Lösung zu erhalten, bereitete ein gute Resultate ergebendes Reagens auf folgende Weise: 1 g Kupferchlorid, ebenfalls 3 g Kaliumazetat wurden in 30 ccm Alk. abs. gelöst, dann beide Lösungen zusammengegossen, wobei sich Kupferazetat in alkohol. Lösung bildete. Das blaue Filtrat wurde mit 5 g Glyzerin versetzt und gut umgerührt. Weiter wurden 4 g Natriumhydroxyd in 10 ccm Wasser gelöst und dann mit 20 ccm Alk. abs. aufgefüllt. Die alkoholische Natronlösung fügte man nun der Kupferazetatlösung zu, brachte das so erhaltene Reagens in ein Uhrschälchen, legte die einige Zellagen dicken Schnitte hinein und erwärmte nach einiger Zeit vorsichtig auf dem Wasserbad. Die Untersuchung erfolgte in Glyzerin.

Allgemein brauchbar zum mikrochemischen Nachweis des Rohrzuckers in pflanzlichen Geweben ist die CZAPEKsche Invertinmethode[2]). Die dazu nötige Invertinlösung stellt man sich auf folgende Weise her. Frische, rasch getrocknete Preßhefe wird mit Wasser zu einem dicken Brei angerührt, bleibt dann ungefähr 12 Std. lang bei 40° stehen, wird sodann rasch abgepreßt. Der Extrakt wird darauf filtriert und mit Alkohol gefällt. Als Niederschlag entsteht dann ein gelblich-weißes, in Wasser lösliches Pulver, das auf Rohrzucker kräftig invertierend wirkt[3]). In eine konz. wässrige Lösung dieses Pulvers werden nun 2—4 Zellagen dicke Schnitte des zu prüfenden Pflanzenteils auf den Objektträger gelegt und mehrere Stunden bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen, bis der Tropfen nahe am Eintrocknen ist. Dann wird von neuem Invertinlösung zugefügt. Dieses Verfahren wird 2—3mal wiederholt, was ca. 2—3 Std. in Anspruch nimmt. Nach dieser Zeit ist der gesamte Rohrzucker in den mäßig dicken Schnitten invertiert. Nach der Inversion läßt man konz. Kupfersulfat-Seignettesalz-Natronlauge nach A. MEYER (s. S. 178) hinzutreten, bedeckt mit Deckglas und erhitzt vorsichtig bis eben zur Siedetemperatur. Es entsteht dann, wenn ursprünglich Rohrzucker in den Schnitten vorhanden war, ein reichlicher, roter Kupferoxydulniederschlag. Man kann auf diese Weise bis zu 0,01 % Rohrzucker ganz gut nachweisen. Traubenzucker ließ bei Vergleichsversuchen noch bei 0,001 % eine deutlich wahrnehmbare Reduktion erkennen[4]). — Mit Hilfe dieser Methode gelingt es sogar, Rohrzucker neben Traubenzucker nachzuweisen, wenn letzterer in nicht zu großer Menge vorhanden ist. Nach der Inversion ist nämlich die Kupferoxydulausscheidung in vielen Pflanzengeweben ganz beträchtlich stärker als vorher. — Um auch in Pflanzenteilen, die Traubenzucker in größerer Menge enthalten, Rohrzucker sicher neben diesem zu erkennen, läßt sich folgender Weg einschlagen[5]). Man legt mehrere Zellagen dicke Schnitte direkt in Schälchen mit konz., siedendheißer Kupfersulfat-Seignettesalz-Natronlauge, damit das Oxydationsmittel möglichst rasch und in großem Überschuß einwirken kann. Nach 1—2 Min., in denen die Oxydation der Glykose erfolgt ist, nimmt man die Schnitte aus der Lösung heraus, spült sie durch schnelles Herumschwenken in einer Porzellanschale mit stark verdünnter Weinsäurelösung ab

[1]) FR. HAGEN, Beitr. z. allgem. Bot., herausgeg. v. G. HABERLANDT, I. Bd., 1916, S. 267.

[2]) FR. CZAPEK, Sitzber. Akad. Wiss. Wien, Math.-Nat., Kl., Bd. CVI, Abt. I, März 1897, S. 14, des Sep.-Abdr.

[3]) C. HOFFMEISTER, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXI, 1898, S. 694.

[4]) Ebenda, S. 695.

[5]) Ebenda, S. 696.

und legt sie in einen Tropfen konz. Magnesiumchlorid-Lösung auf den Objektträger. Man bemerkt dann, daß, besonders bei kurzem Erwärmen, der Kupferoxydulniederschlag in 1—2 Min. vollständig gelöst wird. Hierauf spült man das Chlormagnesium mit weinsäurehaltigem Wasser ab, bringt die Schnitte in Invertinlösung und verfährt dann weiter in der zuvor geschilderten Weise. Vor der Einwirkung des Invertins muß man einen der Schnitte mit FEHLINGscher Lösung darauf prüfen, ob keine Spur reduzierender Substanz mehr in ihm vorhanden ist. Erst dann kann man bei Eintritt von Reduktion nach Inversion mit Sicherheit auf Rohrzucker schließen. Sollten sich, was häufig der Fall ist, zum Schluß Kristalle von Magnesiumsalz und amorphes Magnesiumhydroxyd neben dem ausgeschiedenen Kupferoxydul in dem Präparat vorfinden, so entfernt man sie zweckmäßig mit schwacher Weinsäurelösung, wobei das Kupferoxydul erhalten bleibt. In vielen Fällen, wie z. B. beim Apfel und bei der Birne, gelingt es so, das Vorhandensein von Rohrzucker sicher neben Glykose mikrochemisch festzustellen. Entsprechende Versuche zeigten, daß man nach der geschilderten Methode noch 0,5% Rohrzucker neben 1—5% Traubenzucker nachweisen kann. — Als Lösungsmittel für das Kupferoxydul kann das Magnesiumchlorid durch Zyankalium ersetzt werden. Die Lösung erfolgt dann viel schneller, ist jedoch mit Übelständen verknüpft, da man eine Behandlung mit sehr verdünnter Essigsäure folgen lassen muß, bei der durch die Zersetzung des entstandenen Kupferkaliumzyanürs sich Blausäure entwickelt. Diese Operation ist daher im Abzug vorzunehmen.

Besonders wird zum mikrochemischen Zuckernachweis die SENFTsche Methode[1]) empfohlen. Man überträgt dabei die zu prüfenden Schnitte in ein Gemisch je eines Tropfens essigsauren Natrons und salzsauren Phenylhydrazins, jedes im Verhältnis von 1 : 10 in Glyzerin gelöst. Die beiden Lösungen sind jahrelang haltbar. Die Phenylhydrazinlösung wird wohl im Lauf der Zeit dunkler, ohne daß dabei ihre Wirksamkeit beeinträchtigt würde. Die Schnitte können aus frischem, aber auch aus trockenem, unaufgeweichtem Material, ferner aus solchem hergestellt sein, das in Alkohol oder Glyzerin aufbewahrt wurde. Nach einigen Std., bisweilen erst nach längerer Zeit der Einwirkung, zeigen sich unterm Mikroskop, je nach dem stärkeren oder geringeren Wassergehalt der Gewebe, Büschel nadelförmiger Kristalle oder Körnchen bzw. Sphärite von gelben, in Wasser fast unlöslichen Osazonen. Wird das Präparat ½ Std. lang auf dem Wasserbad erhitzt, so lassen sich die Osazone meist schon gleich nach dem Erkalten nachweisen. Gegen 30-proz. Kalilauge und 60-proz. Chloralhydratlösung erweisen sich die Osazonkristalle sehr widerstandsfähig. Die einzelnen Zuckerarten verhalten sich insofern verschieden, als die Lävulose schon nach wenigen Stunden, Dextrose erst nach mehr als 24 Std. die Osazone bildet; bei Anwesenheit von Saccharose treten sie jedoch erst nach Erhitzen auf. Maltose liefert Phenylosazone von sehr bestimmten Eigenschaften. Nach einstündigem Erhitzen mit dem essigsauren Phenylhydrazin entstehen zunächst gelbe, sirupartige Tropfen, aus denen nach einiger Zeit, oft erst nach mehreren Wochen, Osazonkristalle von zitronengelber Farbe hervorgehen; die von Lävulose oder Dextrose gebildeten Osazone erscheinen mehr goldgelb. Die Kristalle sind lamellenförmig ausgebildet und beträchtlich größer als die feinen und spitzen, von Lävulose und Dextrose gelieferten. Sie treten zu Rosetten zusammen oder kommen in dichten, kompakten Massen vor, an deren Rändern man

[1]) E. SENFT, Sitzber. K. Akad. Wiss. Wien, Bd. CXIII, Abt. 1, 1904, S. 3.

aber deutlich die typische Maltose-Phenylosazon-Kristallform erkennen kann[1]). — Maltose und Glykose lassen sich übrigens durch die verschiedene Löslichkeit ihrer Osazone unterscheiden[2]). — Will man die Lokalisation des Zuckers in pflanzlichen Geweben feststellen, so suche man möglichst ohne Erwärmen der Schnitte sein Ziel zu erreichen. Bei Herstellung von Dauerpräparaten sind Alkohol und alkohol. Lösungen zu vermeiden. Einbetten in Kanadabalsam ist damit ausgeschlossen; dagegen sind Glyzerin und Glyzerin-Gelatine als Einschlußmedien zu empfehlen. — Um auch Lävulose (Fruktose) neben Glykose nachzuweisen, schlägt man denselben Weg ein, wie bei der Senftschen Methode, nur daß man statt des Phenylhydrazins salzsaures Methylenphenylhydrazin zur Herstellung des Gemisches auf dem Objekttäger nimmt[3]). Schon in der Kälte, besser aber nach mehrstündigem Erhitzen auf 40°, fallen nach längerer Zeit, manchmal erst nach 3—4 Tagen die Fruktosemethylphenylosazone in Form von gelblichen bis bräunlichen, büscheligen Aggregaten, Sphäriten, gelappten oder strukturlosen Schollen aus. Durch kombinierte Anwendung dieses und des Senftschen Reagens in Kälte und Wärme können nebeneinander Glykose, Fruktose, Saccharose und Maltose in den Pflanzengeweben nachgewiesen werden, wobei sich ein gemeinschaftliches Vorkommen von Dextrose und Lävulose, daneben vielfach auch Saccharose feststellen läßt.

Eine Unterscheidung von Glykosen, Glykosiden und Gerbstoffen läßt sich übrigens mikrochemisch kaum mit voller Sicherheit durchführen[4]). Die Fehlingsche Lösung wird, wie schon erwähnt, durch eine größere Anzahl von Stoffen reduziert, die weder zu den Glykosen noch zu den Glykosiden gehören; andererseits wirken nicht alle Glykoside reduzierend, sogar nicht das Arbutin, ungeachtet es aus Glykose und Hydrochinon zusammengesetzt ist, also aus zwei Stoffen, die für sich reduzieren. Ebenso können auch bei der Glykosidbildung die Gerbstoffreaktionen verschwinden. Saligenin gibt die üblichen Gerbstoffreaktionen, Salizin hingegen, das aus der Verbindung von Saligenin und Glykose hervorging, keine Gerbstoffreaktion.

Gewisse Stoffe, wie Phlorogluzin und Äskulin, welche die Fehlingsche Lösung reduzieren, tun es bei der Barfoedschen Lösung (vgl. Reg. IV) nicht, doch wird diese Lösung andererseits reduziert durch viele Verbindungen, die den Kohlehydraten sehr fern stehen, wie Hydrochinon, Resorzin; da sie außerdem wenig empfindlich ist, kann ihre Anwendung nur in beschränkten Fällen sich empfehlen.

Viele Gerbstoffe geben auch solche Reaktionen, die andererseits als charakteristische Eiweißreaktionen gelten, was ebenfalls Täuschungen veranlassen kann[5]).

Wir wollen die Zuckerrübe auch noch benutzen, um die mikrochemische Reaktion auf Nitrate und Nitrite vermittels Diphenylamin kennenzu-

---

[1]) S. Mangham, New Phytologist, Vol. X, Nr. 5, 6, 1911, S 160.

[2]) L. Grimbert, Journ. de Pharm. et de Chim., 1903, S. 225; vgl. über die verschiedenen Zuckerarten und ihre Osazone auch H. Euler, Grundlagen und Ergebnisse der Pflanzenchemie, 1. T., 1908, S. 38 ff.

[3]) V. Grafe, Sitzber. d. K. Akad. d. Wiss. Wien, Bd. CXIV, Abt. 1, 1905, S. 15.

[4]) B. Lidforss, Lunds Univ. Årsskr., Bd. XXVIII, 1892; vgl. auch die Besprechungen von O. Richter, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXII, 1905.

[5]) Vgl. S. 136 ff.

lernen[1]). Dieses von den Chemikern zum Nachweis sehr kleiner Mengen von Nitraten und Nitriten benutzte Reagens leistet auch für histologische Zwecke meist gute Dienste. Wir führen Quer- und Längsschnitte durch die Zuckerrübe aus, sorgen aber dafür, daß die Schnitte die Oberfläche erreichen. Die Schnitte lassen wir mit Vorteil zuvor auf dem Objektträger etwas trocknen und fügen dann erst das Reagens hinzu. Wir benutzen 0,05 g Diphenylamin in 10 ccm reiner Schwefelsäure. Sofort nach dem Zusatz tritt eine intensive Blaufärbung, Bildung von Anilinblau, in der äußersten Zone der Schnitte auf. Diese Zone enthält die jüngsten, in der Entwicklung begriffenen Gewebe der Rübe; sie sind es somit, welche die Nitrate führen. Von den blau tingierten Stellen ergießt sich der Farbstoff alsbald über das übrige Präparat, doch ist im ersten Augenblick der Reaktion die sich färbende Zone ganz scharf gezeichnet. Da in Pflanzen, wie die Analysen von Säften ergeben haben, Nitrite sich nur sehr selten finden, so können wir mit großer Wahrscheinlichkeit aus der eingetretenen Reaktion auf Nitrate schließen. Wird statt des etwas eingetrockneten Schnittes ein frischer zur Reaktion benutzt, so verteilt sich der gebildete Farbstoff weit rascher in der Umgebung, und die gefärbte Zone ist weniger scharf begrenzt. Während die Diphenylamin-Reaktion bei der Zuckerrübe sich in so charakteristischer Weise einstellt, kann sie in anderen Pflanzen auch bei Anwesenheit von Nitraten ausbleiben[2]), so daß man aus ihrem Nichteintreten einen endgültigen Schluß auf Abwesenheit von Nitraten noch nicht ziehen darf. So wird die Reaktion unter anderem durch verholzte Membranen geschwächt oder verhindert, kann aber auch in diesen zutage treten bei gleichzeitig vorgenommener Holzstoffreaktion[3]). Andererseits geben auch manche andere Verbindungen, wie z. B. Eisenoxyd, Eisenchlorid u. a. m., mit Diphenylamin dieselbe Reaktion, kommen aber für die Reaktionen in der Pflanze kaum in Betracht. Kaliumnitrat läßt sich direkt in Schnitten nachweisen, wenn man diese in einen Tropfen Alkohol legt und an der Luft trocknen läßt. Es treten Kristalle des Kaliumnitrats mit breit rhombischem Umriß, auch in prismatischen Formen, mit gezackten Kanten auf. Die Diphenylamin-Reaktion kann über die Natur dieser Kristalle definitive Sicherheit verschaffen[4]) und vor Verwechselung beispielsweise mit Asparaginkristallen schützen[5]). — Wertvoll dürfte es für alle Fälle, namentlich da, wo die Diphenylamin-Reaktion versagt, sein, wenn man es neben der Farbenreaktion mittels Diphenylamin auch mit einer Niederschlagsreaktion versucht, von denen die mit „Nitron" (Diphenylanilodihydrotriazol, von *Merck*, Darmstadt, zu beziehen) besonders empfohlen worden ist[6]) und die wir auch bei der Zuckerrübe anstellen wollen. Man bringt das Nitron als 10-proz. Lösung in 5-proz. Essigsäure zur Anwendung und läßt es namentlich, wenn es sich darum handelt, die Lokalisation der Nitrate in den Geweben festzustellen, auf Längsschnitte einwirken. Diesen legt man möglichst schnell das Deckglas auf, damit die im Präparat erscheinenden, charakteristischen stumpfen

[1]) Vgl. H. Molisch, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. I, 1883, S. 150; ferner Derselbe, Mikrochemie der Pflanze, 2. Aufl., Jena 1921, S. 88 ff.

[2]) Vgl. A. F. W. Schimper, Flora, Bd. LXXIII, 1890, S. 217.

[3]) Vgl. diese Reaktion und Ellram, Sitzber. d. naturforsch. Gesellsch. bei der Univers. Dorpat, Bd. IX, 1895, S. 105 ff.

[4]) A. F. W. Schimper, l. c., 1890, S. 219.

[5]) J. Serno, Landwirtsch. Jahrb., Bd. XVIII, 1889, S. 877.

[6]) Von R. Klein, Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. XXX, 1913, 1. Abt., S. 141 ff.

Kristalle von Nitronnitrat, die in kurzen Nadeln oder Büscheln auftreten (Fig. 88), aus den angeschnittenen Zellen nicht herausschwimmen[1]).

Eine Prüfung auf Ammoniak läßt sich bis zu einem gewissen Grade mit Hilfe des Nesslerschen Reagens vornehmen. Es wird zu diesem Zweck Quecksilberchlorid mit Jodkalium versetzt, das gebildete rote Jodquecksilber in überschüssigem Jodkalium gelöst und mit einigen Tropfen reiner Kali- (oder Natron-)Lauge versetzt. Bei Gegenwart geringer Ammoniak-Mengen erfolgt Gelbfärbung der Lösung. Dieser Nachweis gelingt sehr schön mit Stengelquerschnitten von Helianthus tuberosus. Bei größeren Ammoniak-Mengen entsteht ein brauner Niederschlag. Doch verlangen diese Ammoniak-Reaktionen vorsichtige Schlußfolgerung, da verschiedene organische Verbindungen die gleichen Reaktionen geben. Im allgemeinen kann man auf die Gegenwart von Ammonsalzen schließen, wenn die Reaktion sehr schnell eintritt. Sicherer geht man, wenn man nach dem Vorschlag von Weevers folgendermaßen verfährt[2]): Man legt die zu prüfenden Gewebestückchen in eine kleine feuchte Kammer (vgl. S. 150) auf den Objektträger, fügt Magnesiumoxydpulver und einen Tropfen Wasser hinzu, legt daneben etwas mit Chloroform getränkte Watte und schließt die Kammer mit dem Deckglas, auf dessen untere Seite man vorher einen Tropfen Platinchlorid gebracht hat. Nach Einwirkung des Magnesiumoxyds auf die durch die Chloroformdämpfe getöteten Zellen entweicht das evtl. gebildete Ammoniak, das mit dem Platinchlorid am Deckglas Kristalle von Ammoniumchloroplatinat ergibt. Damit die Entstehung von diesen sehr ähnlichen Kaliumplatinchlorid-Kristallen ausgeschlossen sei, verwende man möglichst reines Platinchlorid (etwa Platinchlorid puriss. von *Kahlbaum*), löse in Aq. dest., das mit Verwendung von Quarzgeräten überdestilliert und in Quarzgefäßen aufbewahrt worden ist.

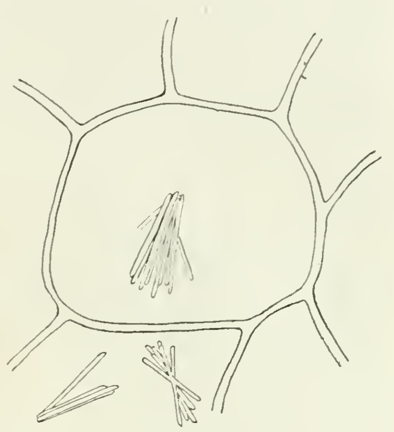


Fig. 88. Zelle aus dem Gewebe der Zuckerrübe, nach Einwirkung von Nitrōn, die stumpfen Nitrōnnitratkristalle zeigend. Vergr. 300.

Als nächstes Untersuchungsobjekt wählen wir die Georginenknolle (Dahlia variabilis). Die der Länge nach halbierte Knolle läßt leicht das zentrale Mark erkennen. Ein aus diesem hergestellter Längsschnitt zeigt unter dem Mikroskop mehr oder weniger rechteckig umgrenzte, in Längsreihen angeordnete Zellen mit sehr reduziertem Zytoplasmaschlauch, mit Kern und farblosem Zellsaft. Die Interzellularräume sind mit Luft gefüllt; die Zellwände fein gestreift (Fig. 89). Die Streifen steigen unter einem Winkel von 35—40° auf. Man glaubt zwei entgegengesetzt geneigte Streifensysteme in gleicher

[1]) Die Gegenwart von Oxalat würde sich bei Einwirkung des Nitrōns dadurch verraten, daß in den Zellen zunächst eine Gallerte entsteht, die allmählich in lange, spitze Kristalle und Büschel sich umwandelt. Nur selten zeigen sich dicke Kristalle mit stumpfen Enden. — Nitrite würden sich an Preßsäften aus den betreffenden Pflanzenteilen nachweisen lassen. Vgl. hierzu Reg. IV Nitrite.

[2]) Th. Weevers, Recueil d. Trav. botan. Néerland., Bd. XIII, 1916, S. 67.

Ebene zu sehen, was sich aus der relativ geringen Dicke der Wand erklärt. Tatsächlich gehören die in der einen Richtung aufsteigenden Streifen der einen, die entgegengesetzt geneigten der anderen Zelle an, wie man das namentlich an dem freien Schnittrand feststellen kann. Mit Chlorzinkjodlösung nehmen die Streifen violette Färbung an; die Zwischenräume zeigen sich, wo sie breiter sind, deutlich ungefärbt.

Wird ein Schnitt in Alk. abs. gelegt, so entsteht im Zellsaft ein feiner Niederschlag von Inulin, einem Kohlenhydrat, das der Stärke nahe steht. Ersetzt man den Alkohol durch Wasser und erwärmt den Objektträger über einer Flamme, so wird der Niederschlag wieder aufgelöst. — Um das Inulin in Form von sog. Sphärokristallen[1])

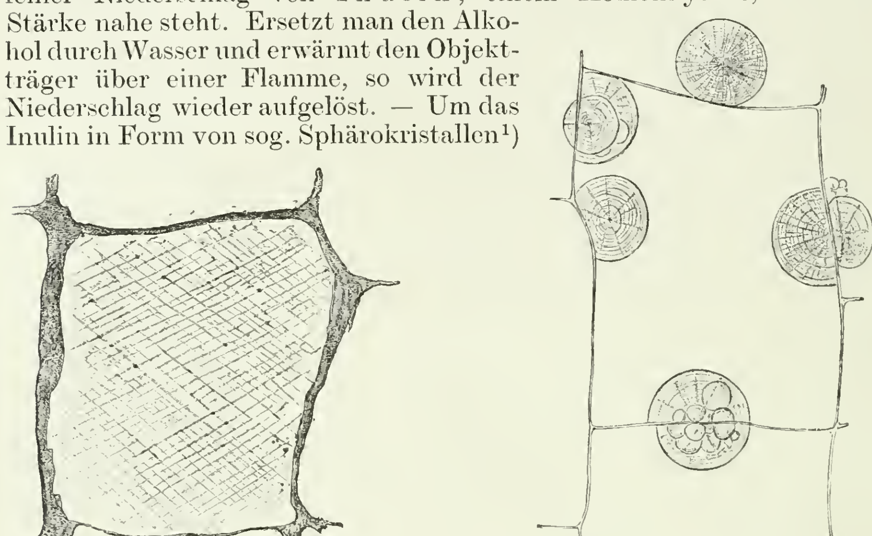


Fig. 89. Fig. 90.

Fig. 89. Zelle aus dem Mark von Dahlia variabilis. Vergr. 240.

Fig. 90. Zelle aus der Knolle von Dahlia variabilis, nach mehrmonatlichem Liegen in Spiritus. Sphärokristalle an den Wänden. Vergr. 240.

oder Sphäriten zu studieren, untersucht man Knollenstücke, die mindestens acht Tage zuvor frisch in etwa 50-proz. Alkohol eingelegt worden sind. Man betrachtet die Schnitte am besten in Wasser und läßt während der Beobachtung sehr langsam Salpetersäure zutreten. Die Sphärite (Fig. 90) befinden sich stets an den Zellwänden. Sie bilden mehr oder weniger vollständige Kugeln. Diese Kugeln können von Zellwänden durchsetzt sein. Meist bilden verschiedene große Kugeln zusammen eine Gruppe. Die Kugeln lassen mehr oder weniger deutlich einen radialen Bau erkennen; dieser Bau tritt schärfer hervor, wenn die Salpetersäure zu wirken anfängt; er rührt von radial angeordneten Kristallnadeln her, welche die Kugeln aufbauen. Sie werden in konzentrischen Schichten dem wachsenden Sphärokristall aufgelagert; daher zeigt dieser auch konzentrische Schichtung. — Jodlösung bringt keine Färbung hervor. — Werden die Sphärite im Wassertropfen auf dem Objektträger erwärmt, so schwinden sie alsbald.

[1]) J. Sachs, Bot. Ztg., Jahrg. XXII, 1864, S. 77; A. Hansen, Arb. d. bot. Inst. in Würzburg, Bd. III, H. I, 1884, S. 108; A. Meyer, Bot. Ztg., XLI. Jahrg., 1883, Sp. 334.

Nicht sämtliche Sphärite der Dahliaknollen bestehen aus Inulin. Welche derselben wirklich aus Inulin bestehen, läßt sich mit α-Naphtol und Schwefelsäure oder Thymol und Schwefelsäure nachweisen. Bringt man einen Tropfen 15—20-proz. Naphtol-Lösung auf den die Sphärite enthaltenden Schnitt und tupft dann 2—3 Tropfen konz. Schwefelsäure auf, so werden die Inulin-Sphärite, indem sie sich lösen, sofort violett, bei Anwendung von Thymol rot gefärbt[1]). Oft sind innerhalb der in Spiritus aufbewahrten Wurzelknollen massenhaft Sphärite von Kalziumphosphat vertreten. Sie haben die nämliche Gestalt wie die Inulin-Sphärite, sind jedoch meist bräunlich gefärbt und von geringerer Größe, lösen sich ferner langsam in dem Untersuchungswasser auf, wobei ihr Umriß bis zuletzt erhalten bleibt, während ihr Lichtbrechungsvermögen immer mehr abnimmt[2]). Die Kalziumphosphat-Sphärite sind entweder ohne deutliche Schichtung und deutlichen Kern, oder sie zeigen einen amorphen Kern aus anscheinend eiweißhaltiger, schleimartiger Substanz, der von einer Schale aus Kristallnadeln umgeben ist. In der zuletzt genannten Form wird die Kernmasse des Sphärits durch Karminlösung und Anilinfarben intensiv gefärbt[3]). Die erstere Form läßt sich ihrer ganzen Masse nach mit Karmin färben, und die Sphärite werden auf diese Weise wieder sichtbar, nachdem sie unter Einwirkung des Wassers fast verschwunden sind. In der einen Form ist die organische Substanz auf den Kern beschränkt, in der anderen ziemlich gleichmäßig durch die ganze Masse der Sphärite verteilt[4]). — Rasch verschwinden die Kalziumphosphat-Sphärite, wenn man Salpetersäure dem Untersuchungstropfen zufügt. Läßt man konz. Schwefelsäure einwirken, so werden sie sofort gebräunt und rasch in Nester von aufschießenden Gipskristallen verwandelt, während die Inulin-Sphärite zunächst unverändert bleiben. Aus diesem Verhalten der Phosphat-Sphärite folgt, daß sie ein Kalksalz führen. Andererseits kann man die Phosphorsäure in ihnen direkt mit Ammonmolybdat nachweisen. Man erwärmt zu diesem Zweck, ohne bis zum Kochen zu erhitzen, die Schnitte in einem Tropfen mit Salpetersäure angesäuerten Ammonmolybdats auf dem Objektträger und erhält dann den für das bloße Auge meist schon sichtbaren gelben, charakteristischen Niederschlag von phosphormolybdänsaurem Ammoniak. Dieser Niederschlag besteht aus Kristallen des regulären Systems, gewöhnlich Kombinationen des Oktaëders und Würfels, die unter dem Mikroskop eine grünlichgelbe Farbe zeigen[5]). Verwechselungen mit anderen Niederschlägen, so mit dem isomorphen arsensauren Salz und mit einem gelben Niederschlag, der durch Kieselsäure hervorgerufen wird, kommen für den Botaniker unter gewöhnlichen Umständen nicht in Betracht[6]). Eine Gelbfärbung des Schnittes ohne den charakteristischen Niederschlag wäre für Phosphorsäure nicht maßgebend, da schon die Salpetersäure der Ammoniummolybdatlösung durch Bildung von Xanthoproteïnkörpern dem Zellinhalt diese Färbung verleiht. Der Nachweis der Phosphorsäure in Geweben mit Ammoniummolybdat wird

---

[1]) H. Molisch, Sitzber. d. Wien. Akad., Bd. XCIII, Abt. II, 1886, S. 918; s. a. Derselbe, Mikrochemie der Pflanze, 2. Aufl., Jena 1921, S. 135; ferner O. Tunmann, in Reg. IV bei Inulin.

[2]) Vgl. A. Hansen, l. c., 1884, S. 95.

[3]) H. Fischer, Cohns Beiträge z. Biol. d. Pfl., Bd. VIII, 1898, S. 60.

[4]) H. Leitgeb, Bot. Ztg., XLV. Jahrg., 1887, S. 129, und Mitt. a. d. bot. Inst. zu Graz, H. 2, 1888, S. 257.

[5]) A. Hansen, l. c., 1884, S. 97.

[6]) A. F. W. Schimper, Flora, Bd. LXXIII, 1890, S. 216.

durch gewisse organische Substanzen, z. B. weinsaures Kali, verhindert; es ist daher unter solchen Umständen die ebenfalls sehr empfindliche Reaktion mit Magnesiumsulfat und Chlorammonium geboten. Es empfiehlt sich eine Lösung von 25 Vol. konz. wässr. Magnesiumsulfatlösung, 2 Vol. konz. wässr. Chlorammoniumlösung und 15 Vol. Wasser. Bei Vorhandensein von phosphorsauren Salzen entsteht ein kristallinischer Niederschlag von phosphorsaurer Ammoniak-Magnesia, die in Ammoniak- und Chlorammonium-Lösung so gut wie unlöslich ist. Die Kristalle gehören dem rhombischen System an und zeigen charakteristische sargdeckelförmige Gestalten und auch ebenso charakteristische X-förmige Kristallskelette[1]).

Was die Lokalisation des Phosphors in den einzelnen Gewebepartien und Zellbestandteilen angeht, so sind zu ihrer Ermittelung eine ganze Reihe Methoden angegeben worden, deren Brauchbarbeit aber von anderer Seite bestritten wurde[2]). Eine zuverlässige Methode fehlt jedenfalls vor der Hand noch.

Sollten die untersuchten Dahliaknollen keine Kalziumphosphat-Sphärite aufweisen, so sind letztere leicht in anderen Pflanzen ausfindig zu machen. Sicher kann man auf sie im Grundgewebe der in den Gewächshäusern kultivierten, fleischigen Euphorbien, etwa Euphorbia Caput Medusae[3]), wenn man sie in Spiritus eingelegt hat, rechnen. Sehr schön findet man sie auch in dem Mark der in Spiritus aufbewahrten Blütenstände von Euphorbia helioscopia.

Im polarisierten Licht, bei gekreuzten Nicols, geben die Inulin-Sphärite, ebenso wie Stärkekörner, ein dunkles Kreuz, dessen Arme mit den Schwingungsrichtungen der Nicols zusammenfallen. Bei Einschaltung von Gipsplättchen, etwa wieder von Rot I. Ordnung, treten auch die Subtraktions- und Additionsfarben in der nämlichen Verteilung wie bei Stärkekörnern auf. Die Kalziumphosphat-Sphärite verhalten sich ebenso, sind aber schwächer doppelbrechend.

Die Dahliaknollen sind reich an Asparagin, enthalten außerdem verhältnismäßig viel Tyrosin[4]), so daß wir sie auch auf diese Körper prüfen wollen. Um die Asparagin-Reaktion vorzunehmen, führen wir ziemlich dicke Querschnitte durch den betreffenden Pflanzenteil aus, ohne ihn mit Wasser anzufeuchten, legen sie auf den Objektträger, fügen einen Tropfen Alk. abs. hinzu, bedecken mit Deckglas und lassen das Präparat austrocknen. Nach vollständiger Verdunstung des Alkohols ist Asparagin vornehmlich in rhombischen Tafeln, von sehr ungleicher Größe, sowie zahlreichen dendritischen Formen am Objektträger und am Deckglas zu finden[5]). Wo die Menge der Kristalle sehr gering ist, wird ihr Nachweis durch das polarisierte Licht erleichtert, da bei gekreuzten Nicols die helleuchtenden und oft farbig schimmernden Asparaginkristalle auf dem schwarzen Grund sogleich in die Augen fallen. Um das Asparagin von anderen gleichzeitig auskristallisierten Substanzen zu unterscheiden, fügen wir jetzt zu dem Präparat eine Lösung von Asparagin hinzu, die völlig gesättigt

---

[1]) A. F. W. Schimper, Flora, Bd. LXXIII, 1890, S. 214 u. 215; A. Zimmermann, Bot. Mikrotechnik, S. 51, bezw. 2. Aufl., herausg. v. H. Schneider, Jena, S. 169.

[2]) Vgl. u. a. O. Richter, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXII, 1905, S. 201; ferner E. Zacharias, Progress. rei bot., Bd. III, 1909, S. 103.

[3]) A. Hansen, l. c., 1884, S. 94.

[4]) H. Leitgeb, Mitt. a. d. bot. Inst. d. Univ. Graz, H. 2, 1888, S. 215 ff.

[5]) Nähere Angaben u. a. bei H. Molisch, Mikrochemie der Pflanze, 2. Aufl., Jena 1921, S. 113 ff.; s. a. Fr. Czapek, Biochemie der Pflanzen, 2. Aufl., II. Bd., 1920, S. 262., bezw. 3. Aufl. 1922, Ebenda.

sein muß und nicht älter als das Präparat sein darf. Die Asparaginkristalle schwinden hierbei nicht, nehmen eher noch an Größe zu, während die Kristalle anderer Zusammensetzung sich so wie in Wasser lösen. Nach Zusatz von reinem Wasser lösen sich auch die Asparaginkristalle. Erwärmt man das Deckglas, an dem Asparaginkristalle haften, bis auf 100° C, so verwandeln sich die Kristalle, indem sie ihr Kristallisationswasser verlieren, in helle, homogene, stark lichtbrechende, wie Öl aussehende Tröpfchen, die in Wasser leicht löslich sind. Wird die Temperatur auf 200° C gesteigert, so tritt Zersetzung der Kristalle ein; sie bilden braune Schaumtropfen, die sich in Wasser nicht mehr lösen. Da das Tyrosin in Wasser nur schwer löslich ist, so würden dessen Kristalle aus dem Präparat, auf das die gesätt. Asparaginlösung einwirkt, nicht verschwinden. Doch ist für Tyrosin charakteristisch, daß es durch das Millonsche Reagens intensiv rot gefärbt wird, ein Verhalten, das uns schon von den Eiweißkörpern her bekannt ist und das ebenso wie die Xanthoproteïnreaktion auf die im Eiweißmolekül vorhandenen Tyrosingruppen zurückgeführt wird [1]). — Das Auskristallisieren des Asparagins und Tyrosins in den Zellen der mit Alkohol behandelten Schnitte wird durch das Vorhandensein des zähflüssigen Inulins gehindert. Man erhält aber das Asparagin in größeren Kristallen und reichlicherer Menge, wenn man etwa 1 cm hohe, aus frischen Knollen geschnittene Querscheiben in ca. 90-proz. Alkohol legt. Nach einigen Tagen erscheinen die Schnittflächen bedeckt mit schönen, selbst bis 1 mm großen Asparaginkristallen. Knollen mittleren Alters, etwa 2—3 cm dick, pflegen sich durch ihren Asparaginreichtum besonders auszuzeichnen.

Unter den Körpern, die als Produkte tieferer Zerspaltung eiweißartiger Stoffe entstehen, nehmen die Amide [2]) die hervorragendste Stelle ein. Unter ihnen kommt dem Asparagin die größte Verbreitung zu. Es stellt allem Anschein nach ein besonders geeignetes Material auch für die Eiweißsynthese dar [3]). Zu dieser bedarf es aber der Mitwirkung stickstoffreier, organischer Stoffe, und häuft sich daher das Asparagin in den meisten Pflanzen an, wenn jene Stoffe in unzureichender Menge zur Verfügung stehen. Das tritt im Dunkeln ein, wo die Kohlenstoffassimilation nicht möglich ist; daher sind auch im Dunkeln erzogene Keimpflanzen, sowie vergeilte Sprosse solcher Art sehr geeignet für eine Untersuchung auf Asparagin. Sehr zu empfehlen sind Lupinus-Keimlinge, die 8 Tage lang im Dunkeln verweilten, oder Schnitte durch den eßbaren Spargel oder durch vergeilte, aus Dahlia-Knollen hervorgetriebene Sprosse.

Aus den mit Alkohol behandelten Schnitten kristallisiert oft auch Salpeter aus, der Ähnlichkeit mit Asparagin hat, sich auch im polarisierten Licht ähnlich verhält, im Wasser löslich ist, aber häufig zweischenklige, einen stumpfen Winkel bildende Formen aufweist, in gesätt. Asparaginlösung schwindet, durch Hitze nicht zerstört wird, vielmehr nach dem Er-

---

[1]) O. Nasse, Sitzber. Naturf. Gesellsch., Halle, März 1879; s. a. Pflügers Arch., Bd. LXXXIII, 1901, S. 361.

[2]) Vgl. hierzu die entsprechenden Abschnitte bei Fr. Czapek, l. c., 1920, bzw. 1922, ferner H. Euler, Grundlagen und Ergebnisse der Pflanzenchemie, I. T., 1908, auch Biochem. Handlexikon, herausgeg. v. M. Abderhalden, Bd. IV, 2. Hälfte, 1911 und Ebenda, Bd. X, 1915, S. 201 ff.

[3]) Vgl. hierzu W. Pfeffer, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. VIII, 1872, S. 533; ferner E. Schulze, besonders in Hoppe-Seylers Zeitschr. f. Physiol. Chem., Bd. XXV, 1899, S. 411 und Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XVIII, 1900, S. 36.

kalten wieder in Kristallform auftaucht, und blaue Diphenylamin-Reaktion (s. S. 182) gibt. Zum mikrochemischen Nachweis des Salpeters ist besonders die Nitrōn-Reaktion empfohlen worden. Man verwendet dabei eine 10-proz. Lösung von Nitrōn in 5-proz. Essigsäure. Diese fällt aus Salpeter noch in einer Verdünnung von 1:133000 das in weißen Nadeln kristallisierende Nitrōnnitrat[1]).

Wir kehren, um den Nachweis von Tyrosin zu versuchen, noch einmal zu unseren Dahlia-Knollen zurück[2]). Aus den frischen Knollen angefertigte, in Glyzerin unter Deckglas liegende Schnitte zeigen nach mehreren Tagen an verschiedenen Stellen deutliche Tyrosinausscheidung in Gestalt allseitig ausstrahlender, sehr feiner Nadeln, die in durchfallendem Licht bräunlich gefärbt, in auffallendem bei schwacher Vergrößerung glänzend weiß erscheinen. Das Tyrosin sammelt sich unter den gegebenen Bedingungen in einzelnen Zellen an. Schnitte, die in viel Glyzerin gelegt werden, weisen kein Tyrosin auf; es diffundiert dann aus den Zellen in die Umgebung. Man kann das Tyrosin in größerer Menge gewinnen, wenn man ein Knollenstück in ein Gefäß von annähernd gleicher Weite legt und etwa so viel Alkohol eingießt, daß ein Drittel des Knollenstücks herausragt. Da scheidet sich an der oberen Schnittfläche der Knollen so viel Tyrosin aus, daß man es mit dem bloßen Auge sehen kann. Man kann mit diesem Tyrosin die schon erwähnte Millonsche Reaktion vornehmen, welche selbst die geringsten Mengen von Tyrosin durch rote Färbung anzeigt, oder auch eine Flocke in Salpetersäure legen und vorsichtig verdampfen lassen. Es bleibt ein gelber Rückstand. Setzt man Natronlauge hinzu, so färbt sich die Flüssigkeit tief rotgelb; nach dem Verdunsten bleiben rotbraune Ausscheidungen. Auch mit Para-Benzochinon lassen sich hier gute Ergebnisse erzielen. Jedoch tritt eine Rotfärbung des Tyrosins, ebenso des Asparagins, erst nach mehreren Min. ein[3]). Es lassen sich zum Nachweis von Tyrosin im übrigen auch narkotisierende Mittel verwerten. So wurde aus jungen Lupinenkeimlingen in der Weise das Tyrosin gewonnen, daß man Schnitte aus dem mittleren Teil der Wurzel in einen Wassertropfen auf ein Deckglas brachte und dieses umgewendet dem Ring einer feuchten Kammer auflegte, die mit Chloroform beschickt war. Nach $^1/_2$—1-stündiger Einwirkung der Chloroformdämpfe zeigte sich das Tyrosin in Form von Sphäriten ausgeschieden. Mit Chloroformwasser, Benzol, Toluol, Alkohol, Äther können ebensolche Sphärite erzielt werden, während nach Einwirkung von 5-proz. Natriumsulfit das Tyrosin in Nadeln auskristallisiert, die kranzartig aneinandergelagert, die Zellen erfüllen[4]).

Wir halbieren nunmehr der Länge nach einen grünen, in kräftigem Wachstum befindlichen Stengel einer Rose — wir wählen Rosa semperflorens der Gärten — und stellen mit dem Rasiermesser einen dünnen Schnitt aus dem mit Wasser befeuchteten, für das bloße Auge an seiner weißen Färbung kenntlichen Mark her. Unter dem Mikroskop sehen wir ein Gewebe aus breiteren, im optischen Durchschnitt meist rechteckigen und aus zwischen diesen befindlichen, schmäleren Zellen. Bei schwacher Vergrößerung fällt es auf, daß die schmäleren Zellen parallel zur Längsachse des Stengels in zusamenhängenden Zügen zwischen den breiteren ver-

[1]) M. Fluri, Flora, Bd. IC, 1909, S. 115. S. a. dies. Abschn. S. 182, 183.
[2]) H. Leitgeb, Mitteil. a. d. bot. Inst. zu Graz, H. 2, 1888, S. 227.
[3]) M. Raciborski, Bull. de l'acad. des Sc. de Cracovie, 2. Juli 1906.
[4]) R. Bertel, Ber. d. Deutsch. bot Ges., Bd. XX, 1902, S. 456.

laufen und von Zeit zu Zeit auch durch quere Anastomosen verbunden werden. Die breiten Zellen zeigen nur spärliche, die schmalen zahlreiche runde Tüpfel. Die schmalen Zellen besitzen etwas dickere Wände; sie führen vielfach Stärke. Wir fügen Chlorzinkjodlösung zu dem Schnitt hinzu; die Zellwände in dem ganzen, eben geschilderten Markgewebe färben sich gelbbraun, kaum, daß stellenweise ein Anflug von Violett sich zeigt. Wir stellen jetzt einen anderen Schnitt her, den wir in einen bereit gehaltenen Tropfen einer wässr. Ferrichlorid-Lösung legen. In vielen der schmalen Zellen färbt sich der Inhalt dunkelblau. Alsbald zieht sich der blaue Inhalt von den Wänden der Zelle zurück und bildet in ihr einen unregelmäßig umgrenzten Ballen. Einen anderen Schnitt untersuchen wir in einer wässr. Lösung von schwefelsaurem Eisenoxyd und finden die gleiche Reaktion. Wir schließen auf Gerbsäure[1]), und zwar auf eine eisenbläuende, während es auch eisengrünende gibt. Dem Umstand, ob blaue oder grüne Eisenreaktion sich einstellt, ist freilich kein zu großes Gewicht beizulegen. Die schöne Blaufärbung, die Tannin mit Eisenchlorid gibt, läßt sich ins Grüne überführen, wenn der Lösung einige Kristalle von Zitronensäure hinzugefügt werden[2]). — Andere Rosen weichen im Bau ihres Marks mehr oder weniger ab, zeichnen sich durch größere oder geringere Stärkemengen in den Zellen aus, geben übrigens alle die Gerbstoff-Reaktionen.

Um die üblichen Reaktionen auf Gerbstoff an einem typischen Objekt zu erproben, wenden wir uns an Galläpfel, wie sie auf den Blättern unserer Eichen zu finden sind. Diese Galläpfel verdanken ihre Entstehung dem Stich der Gallwespe, die ein Ei in das angestochene Gewebe legt. Wir halbieren einen solchen noch grünen Gallapfel und finden an den hierauf hergestellten, zarten Radialschnitten, daß die innere, von der Larve der Gallwespe eingenommene Höhlung von einer aus isodiametrischen, abgerundeten Zellen bestehenden „Schale" umgeben ist, die meist reichlich mit Jod sich bläuende Stärkekörner enthalten. Das an diesen inneren Teil anschließende Gewebe wird von radial gestreckten, polygonalen Zellen gebildet, die an der Peripherie des Gallapfels an Länge abnehmen und schließlich unter der kleinzelligen, nach außen stark verdickten, äußersten Zellschicht, der Epidermis, enden. Dieses ganze, die innere Schale umgebende Gewebe zeigt keine bestimmt geformten Einschlüsse; es wird von Leitbündeln durchzogen, deren Stränge uns hier und dort in die Augen fallen. Legen wir einen frisch hergestellten Schnitt in einen Tropfen wässr. Ferrichlorid- oder Ferrisulfat-Lösung, so sehen wir, daß er sich seiner ganzen Masse nach dunkelblau färbt. Diese Färbung teilt sich auch der umgebenden Flüssigkeit mit und führt uns somit die eisenbläuende Reaktion auf Tannin vor. Beobachtet man die Einwirkung unter dem Mikroskop, indem man zu einem trockenen, unter Deckglas gelegenen Schnitt

[1]) Allerdings gibt es bisher noch kein Reagens, das man als spezifisch für Gerbstoff ansehen könnte; insbesondere ist es mit den angegebenen Reagentien unmöglich, Gerbstoffe von Glykosiden und Glykosen scharf zu unterscheiden; s. Osw. Richter, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXII, 1905, S. 238 ff. Vgl. auch dieses Praktikum, S. 181. Wie different sich selbst die von verschiedenen Pflanzen stammenden Gerbstoffe den einzelnen Reagentien gegenüber verhalten, läßt sich aus den Angaben von W. Eitner, Arch. d. Chem. u. Mikrosk., IV. Jahrg., H. 2, Wien 1911, ersehen.

[2]) B. Lidforss, Lunds Univ. Årssk., Bd. XXVIII, 1892. Über eine neuere Reaktion, die, bei Rosaceen mit eisengrünendem Gerbstoff angewendet, auf einen Zusammenhang zwischen diesem und Anthozyanen hinweist, vgl. Reg. IV Gerbstoffreaktionen.

die Eisenlösung hinzutreten läßt, so sieht man, daß zuerst ein feiner, dunkelblauer Niederschlag entsteht, der sich aber bald wieder in dem Reagens löst, so daß nunmehr blaue Flüssigkeit die Zellen erfüllt. Die schwächste Gerbsäure-Reaktion geben die mit Stärke erfüllten Zellen der inneren Schale.

Zum sicheren Nachweis der Gerbstoffe[1]) genügen die Eisenreaktionen nicht. Andere Stoffe wie Eugenol, Vanillin, Homogentisinsäure u. a. verhalten sich den eisenhaltigen Reagentien gegenüber ebenso. Es müssen somit zum Vergleich noch andere Reaktionen ausgeführt werden, aus deren großer Zahl[2]) hier nur einige hervorgehoben werden können. Wir legen z. B. Schnitte in eine etwa 10-proz. wässr. Lösung von Kaliumbichromat und sehen einen dichten, flockigen, rotbraunen Niederschlag in den gerbstoffhaltigen Zellen sich bilden. Ein ebensolcher Niederschlag entsteht in einem Schnitt, den wir in eine konz. Lösung von molybdänsaurem Ammon in konz. Chlorammonium[3]) eintragen. Mit Bleiessig bildet sich ein weißer Niederschlag. Umständlicher, doch vielfach empfehlenswerter ist die Reaktion mit essigsaurem Kupfer[4]). Man bringt die Pflanzenteile, die man untersuchen will, in kleinen Stücken, lebend in eine gesätt. Lösung von Kupferazetat (7-proz.) und läßt sie 8—10 Tage oder länger darin liegen. Die nach dieser Zeit angefertigten Schnitte werden in einen Tropfen Ferrisulfatlösung (0,5-proz.) auf den Objektträger gebracht. In letzterer bleiben sie nur einige Min., da nach längerer Einwirkung sich die Wände zu bräunen beginnen. Nachdem hierauf die Schnitte in Wasser abgespült und in ein Uhrglas mit Alkohol zum Entfernen der Luft und des Chlorophylls gelegt wurden, untersucht man sie in Glyzerin. In Glyzerin und Glyzerin-Gelatine erhalten sie sich unverändert. Man kann die Pflanzenteile aus dem Kupferazetat in Alkohol übertragen und mit Hilfe von Eisenazetat nach Belieben später untersuchen. Eisenbläuende und eisengrünende Gerbsäuren lassen sich nach dieser Methode sehr deutlich unterscheiden. Eisenazetat, und zwar Liquor ferri acetici, ist wiederholt als Gerbstoffreagens empfohlen worden; es wirkt sehr schnell ein[5]). Eisenvitriol soll als Gerbstoffreagens sich besonders bei Algen bewähren. Die Algen müssen 12—14 St. in der gesätt. wässr. Lösung des Reagens liegen bleiben[6]). An Stelle der wässr. Kupferazetatlösung kann die alkohol. mit Vorteil angewandt werden, wenn es gilt, gleichzeitig den Zellinhalt zu fixieren[7]). Unter Umständen empfiehlt es sich, große Gewebestücke mindestens 1 Tag lang in das Kaliumbichromat zu legen bzw. unter der Luftpumpe damit zu injizieren[8]) und erst aus diesem Gewebestück, nachdem es ausgewaschen wurde, die Schnitte anzufertigen. Die Fällung ist alsdann

[1]) Über die Umgrenzung dieses Begriffs vgl. u. a. FR. CZAPEK, Biochemie der Pflanzen, 2. Aufl., III. Bd., 1921, bezw. 3. Aufl., 1922, Ebenda; auch H. MOLISCH, l. c., 1921, S. 171ff.

[2]) Eine Zusammenstellung darüber findet sich bei J. DEKKER, De Looiis offen, Bot.-chem. Monographie der Tanniden, Amsterdam 1908; Bull. Kolon. Mus. Haarlem, Nr. 35 und 39; deutsche Ausgabe mit Zusätzen, Die Gerbstoffe, Berlin 1913. S. a. Reg. IV Gerbsäuren bzw. Gerbstoffe.

[3]) W. GARDINER, Proceed. Cambridge Phil. Soc., Vol. IV, Pt. VI, S. 387.

[4]) J. W. MOLL, Maandblad voor Natuurwetenschappen, 2. Ser., Bd. 1, 1884, S. 97; vgl. auch Bot. Zentralbl., Bd. XXIV, 1885, S. 251.

[5]) H. MOELLER, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. VI, 1888, S. LXVI.

[6]) O. LOEW und TH. BOKORNY, Bot. Zentralbl., Bd. XXXIX, 1889, S. 370, Anm.

[7]) J. AF KLERCKER, Inaug.-Diss., Tübingen 1888, S. 8.

[8]) G. BERTHOLD, Untersuchungen zur Phys. pflanzlicher Organe, Bd. I, Leipzig 1898.

besser lokalisiert. Die Anwendung einer kochenden Kaliumbichromatlösung beschleunigt die Reaktion. — Von den gerbstoffhaltigen Zellen wird im übrigen Methylenblau aufgespeichert[1]), wenn man lebende Gewebe in äußerst verd. Lösungen dieses Farbstoffes (1 T. Methylenblau auf 500000 T. filtriertes Regenwasser) legt. Der gerbstoffhaltige Zellsaft nimmt zunächst eine deutlich blaue Färbung an, später erfolgen in ihm intensiv blaue Fällungen, die aus einer Verbindung von Methylenblau mit Gerbstoff bestehen. Doch ist zu beachten, daß auch andere Stoffe, so das Phlorogluzin, in ähnlicher Weise Methylenblau speichern[2]).

Um über die Verteilung der Gerbstoffe einwandfreieren Aufschluß zu gewinnen, kann man auch so verfahren, daß man die Untersuchungsobjekte mit Dämpfen von Äthylnitrit (Spiritus aetheris nitrosi) behandelt, die den Gerbstoff in den Zellen mit brauner Farbe fällen. Man verwendet das Reagens am besten in 20-proz. alkohol. Lösung. Die Dauer der Einwirkung soll bei ziemlich großen Objekten 24—48 oder noch mehr St. betragen[3]).

Zur Herstellung von Dauerpräparaten wird empfohlen, die gerbstoffhaltigen Objekte zunächst in Flemmingsches Gemisch oder in ein Gemisch von 1 T. Pikrinschwefelsäure und 1 T. 5-proz. Kaliumbichromatlösung oder in ein Gemisch von 1 T. konz. Kupferazetatlösung und 1 T. Pikrinschwefelsäure zu legen und durch Alkohole von steigender Konzentration in Xylol und Xylol-Kanadabalsam zu übertragen[4]).

Aus einem kräftigen, dicht über dem Boden abgeschnittenen Stengel vom Immergrün, Vinca major oder minor, den wir brechen, sehen wir an den Rändern der Bruchstelle zahlreiche feine Fasern herausragen. Wir fassen einige mit der Pinzette, ziehen sie hervor und bringen sie in einen Wassertropfen auf den Objektträger. Unter dem Mikroskop erscheinen sie uns als lange, stark verdickte, an beiden Enden zugespitzte Sklerenchymfasern. Ihr Lumen ist sehr eng und schwindet an den beiden Enden völlig. Die Wandung zeigt sich bei schwächer verdickten Fasern nur in einer Richtung gestreift; bei stärker verdickten sind zwei entgegengesetzt geneigte Streifensysteme vorhanden; das eine gehört den äußeren, das andere den inneren Schichtenkomplexen an. Mit Chlorzinkjodlösung nehmen die Fasern sofort eine violette, ins Braune spielende Färbung an. Besonders instruktiv ist aber das Verhalten in Kupferoxydammoniak, das befähigt ist, die Zellulose zu lösen (vgl. S. 172, 175). Man muß die Einwirkung direkt beobachten. Bei Zutritt der Kupferoxydammoniaklösung quellen die Wände der Fasern stark und werden alsbald aufgelöst.

Die Streifung der Sklerenchymfasern von Vinca, sowie anderer ähnlicher Fasern, wird vorherrschend auf einen Wechsel wasserärmerer und wasserreicherer Streifen in der Membran zurückgeführt[5]); früher deutete man sie als spiralige Verdickung. — Die Entscheidung in solchen Fragen suchte man vielfach durch Anwendung verschieden stark brechender

[1]) W. Pfeffer, Unters. d. bot. Inst. zu Tübingen, Bd. II, 1886—88, S. 186.
[2]) Th. Waage, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. VIII, 1890, S. 253.
[3]) A. E. Vinson, Bot. Gaz., Bd. IL, 1910, S. 222.
[4]) J. af Klercker, Beitr. z. Method. bot. Unters. Biol. V. St., 1891. Nr. 3.
[5]) C. Correns, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXIII, 1892, S. 280 ff., auch Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XI, 1893, S. 410.

Medien, in welchen man die Beobachtung anstellte, zu gewinnen[1]). Dadurch, daß ein Medium, das stärker oder schwächer als die Zellwandung das Licht bricht, zwischen deren Strukturen eindringt, muß es diese verdeutlichen, bei gleichem Lichtbrechungsvermögen zum Verschwinden bringen. Ein Medium von gleichem Brechungsindex wie Zellulose ist Natriumsalizylat mit Nelkenöl[2]): $^{n}D = 1{,}5$; wenig verschieden auch Kanadabalsam, ^{n}D im Mittel, 1,517[3]) und Anisöl, $^{n}D = 1{,}557$; von Medien, welche schwächer lichtbrechend sind als Wasser, $^{n}D = 1{,}336$, käme abs. Methylalkohol[4]), $^{n}D = 1{,}323$, von stärker lichtbrechenden Kassiaöl, $^{n}D = 1{,}607$, Styrax, $^{n}D = 1{,}630$, Monobromnaphthalin, $^{n}D = 1{,}658$, endlich Schwefel in Schwefelkohlenstoff gelöst, $^{n}D = 1{,}750$[5]), in Betracht. — Auch Austrocknenlassen der Objekte im Wärmeschrank oder direkt über der Flamme fördert oft die Einsicht in den Membranbau. Während der Untersuchung des trockenen Objekts setzt man Flüssigkeiten von verschiedenem Brechungsindex zu und verfolgt ihr Eindringen und die damit verbundenen optischen Wirkungen. Unter Umständen ist es vorteilhaft, das Objekt vor dem Zusatz des Untersuchungsmediums zu erwärmen[6]). — Es kann die Untersuchung auch durch Färbung der Membran gefördert werden. Oder man läßt das Objekt austrocknen und durchtränkt es mit 2-proz. Silbernitratlösung, überträgt es hierauf, ohne es zuvor auszuwaschen, in 0,75-proz. Kochsalzlösung, dann in reines Wasser, setzt es hierauf längere Zeit dem Licht aus, trocknet es schließlich und führt die Untersuchung in Anisöl[7]) aus. Oder man läßt die Objekte in einer Lösung von 10-proz. gelbem Blutlaugensalz sich imbibieren und bringt sie dann in eine verd. Eisenchloridlösung, so daß sich Berlinerblau in den Membranen bildet. Je nach der Menge des in den einzelnen Partien der Membran gebildeten Chlorsilbers oder Berlinerblaus treten diese Partien schärfer gegen die andern hervor.

Außer der Streifung zeigen die Sklerenchymfasern von Vinca, sowie anderer Apocynaceen, häufig eine sog. Querlamellierung[8]). Diese tritt deutlicher nach Färbung mit Hämatoxylin, auch wohl Methylenblau und Karbolfuchsin hervor, wobei die helleren Streifen sich deutlich, die dunkleren schwächer oder gar nicht gefärbt zeigen. Die Querlamellierung steht mit der übrigen Struktur der Zellwand nicht in Beziehung und ist, wie die Untersuchung im Polarisationsmikroskop lehrt, ohne Einfluß auf die Orientierung des Elastizitätsellipsoids der Membran. Die dichteren, helleren Querlamellen verdanken wohl einer Infiltration mit einem besonderen Stoff ihre Entstehung. Auch sind es oft nur bestimmte Schichtenkomplexe der Membran, welche die Querlamellierung zeigen, und dies vielfach nicht in ihrer ganzen Ausdehnung. Läßt man eine stark querlamellierte Sklerenchymfaser, etwa von Apocynum androsaemifolium, lufttrocken werden und untersucht sie in Alk. abs., so erscheint sie bei schwacher Vergrößerung streckenweise undurchsichtig, bei starker Vergrößerung sieht man innerhalb

[1]) L. Dippel, Das Mikroskop, II. T., 2. Aufl., 1898, S. 158.

[2]) Vgl. dieses in Reg. IV.

[3]) Nach G. C. van Walsem, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXXIV, 1917, S. 155.

[4]) C. Correns, l. c., 1892, S. 283.

[5]) L. Dippel, Abhandl. d. Senckenb. naturf. Gesellsch., Bd. X, S. 164; Handb. d. allg. Mikr., 2. Aufl., S. 853.

[6]) C. Correns, l. c., 1892, S. 282.

[7]) Es entspricht das dem His-Recklinghausenschen, in der tierischen Histologie üblichen Verfahren und wurde auf pflanzliche Membranen von Correns angewandt, l. c., 1892, S. 294.

[8]) C. Correns, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XI, 1893, S. 410

der dunklen Querlamellen mit Luft erfüllte, regelmäßig nebeneinander stehende, längliche Kammern. Ihre Entstehung ist auf Wasserverlust in den dunkleren Querlamellen zurückzuführen. In Kanadabalsam bleibt die Mehrzahl der Luftkammern zunächst erhalten und sichtbar.

Die mit Chlorzinkjodlösung gefärbten pflanzlichen Objekte zeichnen sich durch einen Pleochroïsmus aus, der kaum dem des Turmalins nachsteht. Wir hatten Gelegenheit, diesen Pleochroïsmus schon bei den Karotinkristallen zu beobachten (s. S. 161). Er beruht darauf, daß in farbigen, doppelbrechenden Körpern die beiden durch Doppelbrechung senkrecht zueinander polarisierten Strahlen verschiedene Farbenabsorption erfahren. Bei gewöhnlicher Betrachtung sieht man die hierdurch veranlaßte Mischfarbe; bei Betrachtung im polarisierten Licht lassen sich die Farben der einzelnen Strahlen getrennt beobachten[1].

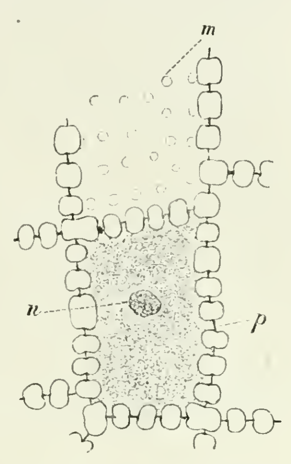


Fig 91. Zelle aus dem Endosperm von Ornithogalum umbellatum. *m* Tüpfel von oben; *p* Schließhaut; *n* Zellkern. Vergr. 240.

Von Vinca können wir leicht Präparate gewinnen, in welchen befreite Sklerenchymfasern übereinander zu liegen kommen und sich z. T. rechtwinklig schneiden. Stellen wir nun ein solches, mit Chlorzinkjodlösung gefärbtes Präparat über den Polarisator ein und drehen es, so gelingt es uns leicht, diejenige Lage zu erlangen, in welcher durch Pleochroïsmus eine Anzahl von Fasern dunkel, andere, welche diese kreuzen, hell gefärbt erscheinen. Durch weitere Drehung des Präparats vermögen wir, die Verhältnisse nach Belieben umzukehren.

Wir halbieren jetzt einen Samen von Ornithogalum, etwa Ornithogalum umbellatum, mit dem Taschenmesser, spannen die eine Hälfte in den Handschraubstock (S. 43) ein, befeuchten die Schnittfläche mit Wasser und stellen ein möglichst dünnes Präparat mit dem Rasiermesser her. Es empfiehlt sich, nicht allzu alte Samen für die Untersuchung zu benutzen. Die Präparate führen uns annähernd rechteckig konturierte Zellen vor (Fig. 91). Die Wände dieser Zellen sind stark verdickt, die Verdickungsschicht aber von zahlreichen, einfachen Tüpfeln durchsetzt. An einer Zellwand, die sich von der Fläche zeigt, erscheinen die Tüpfel als runde Poren (*m*), wie dies an der oberen Zelle der obenstehenden Figur zu sehen ist. Von der Seite erscheinen die Tüpfel als Kanäle, die vom Zellumen bis zur primären Zellwand verlaufen. Die Tüpfel der benachbarten Zellen stoßen genau aufeinander; sie werden durch die primäre Wand (*p*) getrennt, die wir als ihre Schließhaut bezeichnen. Die Innenfläche der Verdickungsschicht zeichnet sich durch stärkere Lichtbrechung aus; sie bildet das „Grenzhäutchen". Wir legen nunmehr einige Schnitte in Jodjodkaliumlösung, entfernen den Überschuß dieser Lösung und fügen einen Tropfen verd. Schwefelsäure hinzu[2]). Die Verdickungsschichten der Zellen quellen dann und färben sich zugleich blau. Zwischen diesen quellenden Verdickungsschichten blieben

[1]) Vgl. H. AMBRONN, Anleit. z. Benutzung d. Polarisationsmikrosk., 1892, S. 50.
[2]) Vgl. S. 171.

sehr zarte Trennungswände ungequollen, und man kann an dünnen Stellen des Schnittes feststellen, daß sie sich in einem bräunlichen Ton färbten. Es sind das die sog. Mittellamellen, diejenigen Wände, welche die Zellen vor Beginn der Verdickung trennten und welche auch die Schließhäute der Tüpfel durchsetzen. — Die Zellen sind mit Protoplasma und körnigen Stoffen erfüllt, die durch Jod gelbbraun werden.

Ein sehr ähnliches Aussehen wie im Endosperm von Ornithogalum haben die Verdickungsschichten der Zellen im Endosperm der Dattel (Phoenix dactylifera). Die Zellen sind aber gestreckter, ihr Lumen enger, die Wände etwas dicker. Die Zellen sind im Dattelkern radial angeordnet. Quer- und Längsschnitte durch diesen Kern werden somit, falls sie mit dessen Radien zusammenfallen, die Zellen in Längsansicht zeigen, tangentiale Schnitte, welche diese Radien rechtwinklig schneiden, die Zellen in Queransicht vorführen. Jodjodkalium mit Schwefelsäure färbt die Verdickungsschichten blau, Chlorzinkjodlösung sehr schön violett; während die Verdickungsschichten bei dieser Behandlung quellen, treten meist zahlreiche Lamellen an ihnen hervor.

Soll die Quellung und Lösung der Wände näher verfolgt und aus den eintretenden Erscheinungen Schlüsse auf den Bau dieser Wände gezogen werden, so empfiehlt sich die Anwendung von 5—10-proz. Chromsäure; sie greift zunächst die Mittellamellen, dann die Grenzhäutchen an. Kaliumquecksilberjodid (Auflösung von Quecksilberjodid in Jodkaliumlösung) färbt das Grenzhäutchen hellgelb und bringt es zu starker Quellung[1]).

Bei der Keimung von Samen, die solche Verdickungsschichten in ihren Zellen besitzen, wie wir sie eben bei Ornithogalum und Phoenix kennen lernten, findet eine Auflösung der Verdickungsschichten statt. Die Reservezellulose (Hemizellulose) des Dattelkerns hält Grüss für ein Gemenge der beiden Kohlenhydrate Mannan und Galaktan[2]). Sie ist in Kupferoxydammoniak löslich[3]).

---

[1]) L. Dippel, l. c., 1898, S. 173.

[2]) J. Grüss. Bot. Zentralbl., Bd. LXX, 1897, S. 242 ff., S. a. Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XX, 1902, S. 36.

[3]) A. Meyer. Erstes mikrosk. Praktikum, 3. Aufl., 1915, S. 40.

VI. Abschnitt.

Handmikrotome. Epidermis. Spaltöffnungen.

Transpirationsversuche. Kobaltprobe. Infiltrationsmethode. Gasdiffusionsmethode. Elektrische Objektträger. „Hydropoten.“ Sammellinsen.

Untersuchungsmaterial.

Blätter von Iris florentina oder einer anderen Iris-Art. Blätter einer Hyacinthus-Art. Blätter von Tradescantia virginica. Blätter von Lilium candidum. Blattstück von Aloë nigricans. Blätter von Tropaeolum majus. Blätter von Campanula persicifolia. Alle Blätter sind frisch zu untersuchen, aber auch als Alkoholmaterial verwendbar.

Blätter von Tradescantia zebrina. Blätter von Sedum Telephium. Blätter von Mercurialis annua. Blätter von Aneimia fraxinifolia. Blätter von Nerium Oleander. Blätter von Fuchsien. Schwimmende bezw. untergetauchte Blätter oder Stengel von Sagittaria sagittifolia oder S. natans.

Wichtigste Reagentien und Farbstoffe.

Chlorzinkjod. — Konz. Schwefelsäure. — Gentianaviolett.

Wir stellen einen Flächenschnitt von der Außenseite (morphologischen Unterseite) der „reitenden“ Blätter einer Schwertlilie, z. B. von Iris florentina her. Dabei gebrauchen wir, wie auch sonst bei Herstellung von Schnitten aus frischem Material, um das Eindringen der das mikroskopische Bild störenden Luft zu verhindern, die Vorsicht, Wasser auf die Schneide des Rasiermessers zu bringen. Der Schnitt muß so dünn sein, daß er das unter der Epidermis gelegene Gewebe nur streift; er wird, mit seiner Außenseite nach oben gekehrt, in Wasser untersucht. Da sieht man, daß die Epidermis von langgestreckten Zellen gebildet wird, die parallel zur Längsachse des Blattes verlaufen. Die Zellen schließen mit quergestellten Scheidewänden ab, sind ohne Interzellularräume miteinander verbunden, führen farblosen Zellsaft und besitzen einen sehr reduzierten Wandbeleg aus Zytoplasma, der auch den Kern in sich birgt. An der Außenseite ist die Epidermis von einem äußerst feinkörnigen Wachsüberzug bedeckt. In einer Linie mit den Epidermiszellen liegen die elliptischen Spaltöffnungen (Stomata), die aber nur undeutlich zu sehen sind. Das rührt daher, daß die vier angrenzenden Oberhautzellen über die „Schließzellen“ der Spaltöffnung greifen, sie teilweise deckend. So bleibt nur ein gestreckt elliptisches Grübchen (*f*) übrig, das auf die Spaltöffnung führt (Fig. 92*A*). Dieses Grübchen erscheint meist schwarz, weil von Luft erfüllt. Um die Schließzellen gut zu sehen, kehre man nunmehr den Schnitt um. Da stellt man leicht fest, daß die Spaltöffnung von zwei halbmondförmigen Schließzellen gebildet

wird. Diese Zellen führen, zum Unterschied von den benachbarten Oberhautzellen, Chlorophyllkörner. Die Kerne pflegen in halber Länge der Schließzellen sich als helle Flecke kenntlich zu machen. Zwischen beiden Schließzellen befindet sich ein spindelförmiger Spalt (*s*), der etwa halb so lang wie jede dieser Zellen ist. — Da die Längsachse der Spaltöffnungen mit der Längsachse des Blattes zusammenfällt, so gelingt es hier leicht, gute Querschnitte der Spaltöffnungen zu bekommen. Wir schneiden zunächst mit der Schere einen etwa $1\frac{1}{2}$ cm langen und 3 mm breiten Streifen aus dem Blatt, parallel

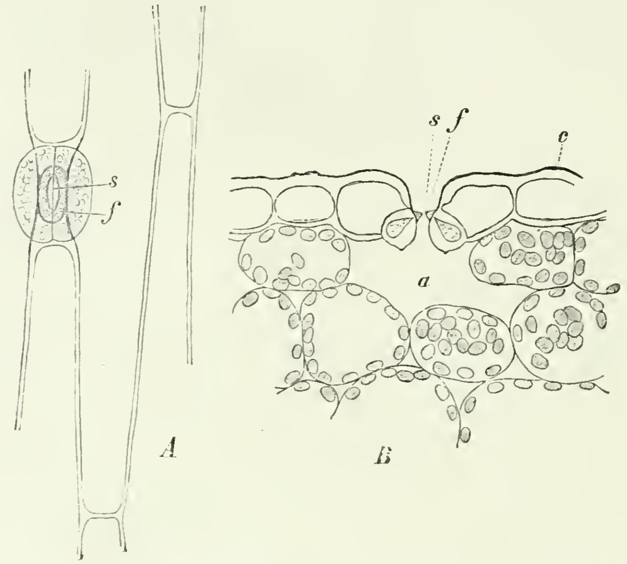


Fig. 92. Epidermis der Blattunterseite von Iris florentina. *A* von oben, *B* im Querschnitt. *f* Grübchen; *s* Spalt; *c* Kutikula; *a* Atemhöhle. Vergr. 240.

zu dessen Längsachse, heraus und spannen ihn in Holundermark ein. Das hierzu nötige Holundermark gewinnt man aus trockenen Stengelstückchen der genannten Pflanze, von denen man die Rinde und den Holzkörper abschält. Ein Markstückchen von 3 cm Länge wird mit einem scharfen Messer in zwei gleiche Längshälften geteilt, was am besten gelingt, wenn man das Stückchen auf den Tisch legt und so liegend durchschneidet. Zwischen diese Hälften wird der Blattstreifen eingefügt. Man führt hierauf zarte Querschnitte durch das Mark und den Blattstreifen und überträgt die Blattschnitte mit einem Pinsel von der Messerklinge auf den Objektträger oder besser noch in ein mit Wasser gefülltes Uhrglas. Während des Schneidens kann man die beiden Markstückchen einfach mit den Fingern zusammenhalten oder auch beide Hälften durch Umwickeln mit einem Faden aneinander befestigen. Beim Schneiden drehe man die Markstückchen so, daß das Messer die breite Fläche, nicht die Kante des Objekts treffe; man bekommt auf diese Weise viel gleichmäßigere Schnitte. Für zarte Objekte ist das weichere Mark aus dem Stengel der Sonnenblume dem etwas härteren Holundermark vorzuziehen, für resisten-

tere Objekte, als das vorliegende, der Flaschenkork. — Die Gewinnung hinreichend zarter Schnitte dürfte hier kaum Schwierigkeiten bereiten; allenfalls könnte sich der, dem das nötige Geschick für eine solche Leistung fehlt, gleich mit einem der kleinen Handmikrotome behelfen, die in der Einleitung S. 58 empfohlen wurden. Die beiden Holundermarkstückchen, zwischen welche das Objekt eingeklemmt wurde, hat man in diesem Fall zwischen zwei entsprechend ausgehöhlte Korkstückchen einzuklemmen und so in dem inneren Zylinder des Mikrotoms zu befestigen.

Wir stellen gleich eine größere Anzahl von Schnitten durch das Objekt her, die wir in dem mit Wasser gefüllten Uhrgläschen sammeln. Die ersten Schnitte, die wir dem Uhrgläschen entnehmen, untersuchen wir in Wasser. Sie zeigen an günstigen Stellen Ansichten der Spaltöffnungen, wie sie Fig. 92*A* abbildet. Wie diese Blattquerschnitte gleichzeitig lehren, werden die Epidermiszellen von Iris florentina auf ihrer Außenseite stärker als auf ihrer Innenseite verdickt. Doch sind auch die Innenwände ziemlich kräftig, während die Radialwände nur eine geringe Dicke besitzen. Es hängt dies mit den Aufgaben der Epidermis zusammen, die nicht nur den äußeren Schutz zu besorgen, sondern auch der Wasserspeicherung zu dienen hat[1]). Die dünnen Radialwände gestatten leicht eine Volumenänderung der Zellen, die bei Wasserverlust blasebalgartig ihre Höhe verringern und bei Wasserzufuhr wieder vergrößern. Die beiden Schließzellen liegen vertieft zwischen den Oberhautzellen; man sieht jetzt deutlich, in welcher Weise letztere über die Schließzellen greifen. Das Grübchen (*f*) führt auf die Schließzellen hin. Diese zeigen sich auf der oberen und unteren Seite stärker verdickt. Über dem Spalt befindet sich noch eine besondere Verdickungsleiste, die am Querschnitt schnabelförmig vorspringt. Unter ihr ist die Wand in einem schmalen Streifen dünner, so auch in einem breiteren Streifen an der gegenüberliegenden Seite. Diese Ausbildung der Wandverdickung bedingt den Bewegungsmechanismus der Schließzellen, die höher werden, sich zugleich stärker krümmen, den Spalt daher erweitern, wenn ihr Turgor steigt, die sich abflachen, zugleich gerader werden und so den Spalt verengen, wenn ihr Turgor sinkt. Damit die Beweglichkeit der Spaltöffnung nicht behindert werde, verdünnt sich plötzlich die stark verdickte Wand der angrenzenden Epidermiszellen an der Ansatzstelle der Schließzellen, die so an Hautgelenken, gleichsam wie an Scharnieren, befestigt sind. Unter der Spaltöffnung befindet sich die Atemhöhle (*a*), ein im unversehrten Blatt mit Luft erfüllter, großer Interzellularraum, der von chlorophyllhaltigen Zellen umgrenzt ist und mit den zwischen diesen befindlichen Interzellularräumen in Verbindung steht. — Ein in Chlorzinkjodlösung eingelegter Querschnitt lehrt uns, daß die Wände der Epidermiszellen sich im ganzen Umkreis violett färben, mit Ausnahme eines dünnen, etwas faltigen Außenhäutchens, das gelbbraun wird, der sog. Kutikula (*c*). Diese Kutikula bildet an der Spaltöffnung den schon erwähnten, schnabelförmigen Fortsatz, der, weil er kutinisiert ist, mit Chlorzinkjodlösung sich gelbbraun färbt. Als äußerst zartes Häutchen setzt sich die Kutikula durch die Spalte über die Schließzellen bis an den Ursprung der chloro-

[1]) M. Westermaier, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XIV, 1884, S. 43.

phyllhaltigen Parenchymzellen fort. Im übrigen werden auch die Schließzellen in ihrem ganzen Umfang violett. Bei Anwendung von konz. Schwefelsäure löst sich der ganze Schnitt schließlich auf, es bleibt nur die Kutikula samt den kutinisierten Vorsprüngen der Spaltöffnung zurück.

Die Spaltöffnungen an den Blättern von Hyacinthus-Arten sind jenen von Iris florentina ganz ähnlich gebaut, doch nicht in die Epidermis vertieft; ihre beiden Schließzellen liegen vielmehr in gleicher Höhe mit den übrigen Epidermiszellen. Daher zeigen Flächenschnitte oder abgezogene Epidermisstreifen, auch wenn sie von außen

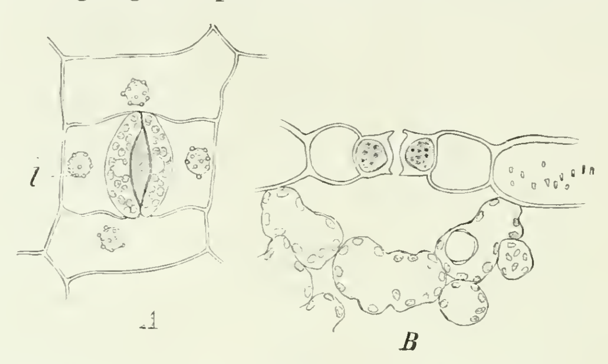


Fig. 93. Epidermis der Blattunterseite von Tradescantia virginica. *A* von oben; *B* im Querdurchschnitt; *l* dem Zellkern anliegende Leukoplasten. Vergr. 240.

betrachtet werden, gut die beiden Schließzellen. Die Spaltöffnungen befinden sich nicht nur an der Unterseite, sondern auch an der Oberseite des Blattes[1]). Da auch hier die Längsachsen der Spaltöffnungen mit der Längsachse des Blattes zusammenfallen, so ist es leicht, gute Querschnitte zu bekommen. In halber Höhe an der Spaltseite, sowie der ganzen Höhe nach an den benachbarten Epidermiszellen, sind die Wände der Schließzellen schwach verdickt. Die Ausbildung ihres Hautgelenks ist die nämliche wie bei Iris.

Die Spaltöffnungen der Lilium-Arten verhalten sich ganz ähnlich (siehe z. B. nächste Seite).

Ein äußerst günstiges Objekt für das Studium des Spaltöffnungsapparats ist in Tradescantia virginica gegeben. Die Epidermis besteht auf beiden Seiten des Blattes aus polygonalen, in der Längsrichtung des Blattes meist gestreckten Zellen. Mit diesen wechseln engere Streifen aus schmäleren und längeren Zellen ab. Diese Streifen sind schon mit dem bloßen Auge zu sehen, namentlich an der Blattunterseite, und erscheinen grün, während die Streifen aus den breiteren Zellen graue Färbung zeigen. Die Seitenwände der Oberhautzellen weisen Poren auf; die Außenfläche läßt schwache Streifung erkennen. Die Zahl der Spaltöffnungen ist an der Unterseite des Blattes bedeutend größer, daher wählen wir diese Seite für

[1]) Über die Verteilung der Spaltöffnungen auf den Blättern vgl. W. ESPE, Dissert., Göttingen, 1911; über Zahl und Größe, S. H. ECKERSON, Bot. Gaz. Vol. XLVI, 1908, S. 221. Über die Spaltöffnungen bei verschiedenen Pflanzenfamilien vgl. u. a. G. VOSS, Beih. z. bot. Zentralbl., 1. Abt., Bd. XXXIII, 1917, S. 71 ff., und L. REHFOUS, Étude sur les Stomates. Thèse de Genève, 1917.

die Untersuchung. Die Spaltöffnungen sind fast immer von je vier Epidermiszellen umgeben (Fig. 93). Sie liegen in gleicher Höhe mit der Epidermis. Der Spalt zwischen den Schließzellen ist relativ groß. Die Schließzellen führen Chlorophyllkörner, zwischen denen meist der Zellkern sichtbar ist. Auch in den Epidermiszellen treten die Kerne scharf hervor und zeigen sich umgeben von kleinen, farblosen Leukoplasten (*l* in Fig. 93*A*). Der Zellsaft der Epidermiszellen ist hin und wieder rosenrot gefärbt. Die Längsachse der Spaltöffnungen fällt mit der des Blattes zusammen, so daß es auch hier leicht ist, gute Querschnitte zu bekommen. Die Spaltöffnung erscheint dann so, wie sie uns von der Fig. 93*B* vorgeführt wird. Die Spaltseite zeigt sich wiederum in mittlerer Höhe schwächer verdickt und so auch die ganze gegenüberliegende, an die benachbarten Oberhautzellen grenzende Wand. Außerdem fällt es auf, daß die beiden an die Spaltöffnung seitlich anschließenden Oberhautzellen flacher und an ihrer Außenseite schwächer verdickt sind, als die nächstfolgenden Epidermiszellen. Sie gehören als „Nebenzellen“ mit zum Spaltöffnungsapparat und bilden das Scharniergelenk, das bei Iris florentina nur durch die dünne Hautstelle an der Insertion der Schließzellen vertreten war. Daß die Leukoplasten (*l*) trotz ihrer dem Licht ausgesetzten Lage klein und farblos geblieben sind und sich nicht zu Chlorophyllkörnern weiter ausgebildet haben, hängt damit zusammen, daß der Epidermis hier keine assimilatorischen Aufgaben zufallen.

Die so häufig als Ampelpflanze kultivierte Tradescantia zebrina weist einen ebensolchen Spaltöffnungsapparat wie Tradescantia virginica auf und kann diese namentlich im Winter ersetzen. Die Spaltöffnungen befinden sich nur an der Unterseite des Blattes. Viele Epidermiszellen führen dort rosenroten Zellsaft. Häufig sind zu jeder Seite der Spaltöffnung zwei Nebenzellen vorhanden. Der Querschnitt ist sehr instruktiv, wenn es auch nicht eben leicht fällt, ihn recht dünn zu erhalten. Für die Orientierung genügen übrigens auch dickere Schnitte. Die Oberhautzellen beider Blattseiten zeichnen sich, wie der Querschnitt lehrt, durch bedeutende Höhe aus. Namentlich jene der Oberseite sind so hoch, daß sie für sich allein die halbe Dicke des Blattes ausmachen. Die Blätter von Tradescantia zebrina weisen somit in ihrer Epidermis einen äußerst mächtigen Wasserbehälter auf. Viele ihrer Epidermiszellen sind durch quere Wände geteilt. Die Nebenzellen der Spaltöffnung bleiben ganz flach, so daß eine große Atemhöhle, von der Höhe der angrenzenden Epidermiszellen, unter dem Spaltöffnungsapparat liegt.

Auffallend große Spaltöffnungen führt die Unterseite (spärlich die Oberseite) der Blätter von Lilium candidum; diese sind daher als Untersuchungsobjekt zu empfehlen. Die Oberhautzellen sind in der Längsachse des Blattes gestreckt, laufen in geraden Reihen, haben aber welligen Umriß. Die Spaltöffnungen stehen in der Verlängerung der sonstigen Oberhautzellen und in gleicher Höhe mit ihnen; der leicht zu erzielende Querschnitt zeigt ein Scharnier an der Einfügungsstelle der Schließzellen in Gestalt einer plötzlichen Verdünnung an der stärker verdickten Außenwand der angrenzenden Oberhautzellen.

Das Licht veranlaßt, indem es die Kohlenstoffassimilation in den chlorophyllhaltigen Schließzellen anregt und durch Verzuckerung der in ihnen

vorhandenen Stärke osmotisch wirksame Substanz liefert, eine Steigerung des Turgors in ihnen und damit ein Öffnen des Spaltes. Umgekehrt wirkt die Verdunklung[1]); es läßt sich dabei unter Mikroskop, besonders auffällig nach Einwirkung von Jodjodkalium auf die Schnitte, feststellen, daß Stärke am reichlichsten während der Dunkelheit, so in der Nacht, in den Schließzellen vorhanden ist, die dann schon bei geringer Beleuchtung abnimmt, um während der Vormittagsstunden fast ganz zu verschwinden. Man wird sich an passenden Objekten, etwa an den großen Spaltöffnungen der Liliaceen, von diesem Verhalten leicht überzeugen. Man kann auch die offenen Spalten solcher Spaltöffnungen in den Präparaten durch Anwendung wasserentziehender Mittel, die den Turgor in den Schließzellen herabsetzen, zum Verschluß bringen, so durch Zusatz von Salpeterlösungen oder von Glyzerin. Sind die betreffenden Spaltöffnungen mit Nebenzellen versehen, so tritt wohl in letzteren unter dem Einfluß solcher wasserentziehender Mittel zunächst Plasmolyse[2]) ein, und da der Druck der Nebenzellen auf die Schließzellen dadurch aufgehoben wird, so erweitert sich auch wohl zunächst der Spalt zwischen den letzteren, um sich jedoch zu schließen, sobald auch in den Schließzellen selbst die Plasmolyse sich einstellt. — Hat man Glyzerin benutzt, um den Verschluß der Spalten zu bewirken, so läßt sich das Präparat noch zu einem weiteren Versuch verwenden. Das Glyzerin dringt nämlich, wenn auch nur langsam, in die lebende Zelle ein[3]). Läßt man somit zu einem Präparat, auf das eine Glyzerinlösung 2—3 Std. einwirkte, Wasser hinzutreten, so wird, falls die Schließzellen durch das Reagens nicht geschädigt worden sind, zunächst durch Wasseraufnahme eine Steigerung des osmotischen Druckes in den Schließzellen eintreten und ein Öffnen des Spaltes erfolgen. — Bestimmte Stoffe, wie Äthylalkohol, Methylalkohol, Formaldehyd, Chloralhydrat, Anilin, Phlorogluzin u. a. m. dringen so rasch in das Plasma ein, daß sie Plasmolyse nicht hervorzurufen vermögen[4]).

Durch die Spalte zwischen den Schließzellen vollzieht sich nicht nur der Gasaustausch bei den Assimilations- und Atmungsvorgängen, sondern auch der Hauptsache nach die Transpiration. Man kann dies mit Hilfe der „Kobaltprobe“ feststellen[5]). Fließpapier wird mit einer etwa 5-proz. Kobaltchlorürlösung getränkt und getrocknet. Es ist dann blau; die geringste Spur Feuchtigkeit färbt es rot[6]). Legt man nun den beiden Seiten eines abgetrennten Blattes, das womöglich zuvor besonnt war und Spaltöffnungen nur an der einen Seite führt, zwei trockene, dicht anliegende Kobaltpapierstreifen auf, so rötet sich das Kobaltpapier sehr rasch an der die Spaltöffnungen führenden Seite des Blattes, während es, vorausgesetzt, daß keinerlei Verletzung der Blattflächen vorlag, oft lange

[1]) Vgl. hierzu S. Schwendener, Monatsber. d. Berl. Akad. d. Wissensch., 1881, S. 833, und H. C. Schellenberg, Bot. Ztg., LIV. Jahrg., 1896, I. Abt., S. 169. Dort die ältere Literatur. S. a. F. Hagen, Beitr. z. allgem. Bot., herausg. v. G. Haberlandt, I. Bd., 1916, S. 272, 289, und vgl. dazu K. Linsbauer, Flora, Bd. CIX, 1916, S. 113 ff., und weiter E. van Slogteren, Dissert., Groningen, 1917.

[2]) Vgl. S. 144.

[3]) E. Overton, Vierteljahrsschr. d. Naturf. Gesellsch. Zürich, 1895.

[4]) Ebenda.

[5]) E. Stahl, Bot. Ztg., LII. Jahrg., 1894, I. Abt., S. 118. Eine eingehende Schilderung dieser und anderer hierhingehöriger Methoden findet sich bei A. Grafe in Abderhalden's Handbuch der biolog. Arbeitsmethoden, XI Abt., Teil 2, 1922, S. 105 ff.

[6]) Über ein besonders empfindliches Kobaltpapier vgl. Reg. IV.

Zeit auf der spaltöffnungsfreien Seite blau bleibt. Durch Glasplatten, die man mittels Gummibändern zusammenhält, oder mit Haftklammern befestigte Glimmerplättchen ist für ein gutes Anliegen des Kobaltpapiers am Blatt zu sorgen.

Zum gleichen Zweck läßt sich auch der folgende einfache, leicht herzustellende Apparat[1]) verwenden. Es ist ein kleines Korkblöckchen von etwa 5 mm Länge, 4 mm Breite und 4 mm Höhe, an dessen Unterseite ein etwa 3 mm breites und 8 mm langes, sehr hygroskopisches Hornspänchen befestigt ist, das an seinem freien Ende eine als Zeiger dienende Borste trägt. In Berührung mit einer trockenen Fläche bleibt das Hornspänchen gerade, an einer verdunstenden Fläche, so der die Spaltöffnungen tragenden Blattseite, krümmt es sich und zeigt durch den Grad der Krümmung die Höhe der Transpiration an. Diese liest man an einem entsprechend angebrachten, mit Gradteilung versehenen Quadranten ab. Ferner läßt sich die Eigenschaft ätherischer Alkohol-Lösungen von Kollodium, sich zu trüben, wenn sie mit Wasserdämpfen in Verbindung kommen, dazu benutzen, um festzustellen, an welchen Orten eines Organs Verdunstung stattfindet[2]). Man bestreicht mit einem in die Kollodium-Lösung getauchten Pinsel die zu untersuchende Fläche, wobei eine Membran entsteht, die sich leicht abheben läßt und unter dem Mikroskop deutlich die Abdrücke der Epidermiszellen zeigt. Das Häutchen erscheint entweder hell oder dunkel, dunkel dort, wo es einer verdunstenden Stelle auflag. Vermittelst dieses Verfahrens ließ sich u. a. feststellen, daß die roten Teile verschiedener Pflanzenorgane weniger verdunsten, als die grünen. — Das Offen- oder Geschlossensein der Spaltöffnungen läßt sich auch durch die „Infiltrationsmethode“ nachweisen[3]). Man verfährt dabei in der Weise, daß man mittels des zugespitzten, verlängerten Stopfenendes eines Stiftfläschchens auf die Stomata-führende Epidermis Tropfen von Flüssigkeiten, am besten Alkohol, Benzol, Xylol bringt, die schnell in sehr kleine Kapillaröffnungen, wie sie die Spalten der Spaltöffnungsapparate darstellen, einzudringen vermögen. Treten die Flüssigkeiten ein, d. h. sind die Spalten geöffnet, so verbreiten sie sich rasch von den Atemhöhlen aus in die Interzellularen des Schwammparenchyms, und das Blatt wird an der betreffenden Stelle im auffallenden Licht dunkel, im durchfallenden Licht durchscheinend werden. Dabei prüft man am besten erst mit Alkohol. Falls dabei keine Infiltration eintritt, ist dies noch kein Beweis für das vollständige Geschlossensein der Spaltöffnungen. Prüft man nämlich weiter mit den feineren Indikatoren, Benzol oder Xylol, so zeigt sich, daß diese oft doch noch einzudringen vermögen, ein Beweis dafür, daß die Spaltöffnungen noch, wenn auch nicht sehr weit, offen waren. Man muß also stets zwei

---

[1]) F. Darwin, Philos. Transact. of the Roy. Soc. of London, Ser. B, Vol. CXC, 1898, S. 533. Es sei auch auf das „Porometer“ hingewiesen, einen Saugapparat, den F. Darwin und D. F. M. Pertz, Proceed. Roy. Soc., B., Vol. LXXXIV, 1911, S. 136, angegeben haben. Bei ihm läßt sich aus dem mehr oder minder starken Sinken des Wassers in einem Steigrohr der Grad der Öffnung der Spalten eines Blattes feststellen. Eine Schilderung dieses Porometers findet sich u. a. bei F. W. Neger, Die Naturwissenschaften, III. Jahrg., 1915, S. 239. Das Porometer ist zwecks Erreichung besserer Untersuchungsergebnisse unterdes von R. C. Knight modifiziert worden, vgl. R. C. Knight, New. Phyt., Vol. XIV, 1915, S. 212; ferner Derselbe und C. P. G. Laidlaw, Ann. of Bot., Vol. XXX, 1916, S. 46 ff.

[2]) L. Buscalioni e G. Pollacci, Atti dell' Istit. Bot. dell' Università di Pavia, Nuov. Ser. Vol. VII, 1901.

[3]) H. Molisch, Zeitschr. f. Bot., IV. Jahrg., 1912, S. 106.

Proben machen. Beim Geschlossensein der Spaltöffnungen unterbleibt die Infiltration. Als sehr brauchbar zur Infiltration hat sich auch eine Lösung von Fuchsin in Alkohol erwiesen [1]); sie dringt sehr schnell ein und bewirkt in den infiltrierten Teilen eine haltbare Rotfärbung. Auch die Reihe: Petroläther, Petroleum, Paraffinum liq. läßt sich bei derartigen Versuchen gut verwenden, wobei sich zeigt, daß Petroläther durch sehr enge Spalten noch einzudringen vermag, Petroleum, um eindringen zu können, eine größere Spaltöffnungsweite verlangt, zum Eindringen von Paraffinum liq. jedoch die Stomata ganz besonders weit geöffnet sein müssen [2]). Zweckmäßig erscheint es, der besseren Möglichkeit des Entweichens der in den Interzellularen befindlichen Gase wegen, die Infiltrationsflüssigkeit von einer Seite fortschreitend aufzutragen [3]). — Läßt man ein mit Jod versetztes Infiltrationsmittel, etwa Äther mit etwas Jod, einwirken, so kann man, falls die Spalten geöffnet waren, das Infiltrationsmittel also eindringen konnte, zugleich feststellen, ob das Blatt assimiliert und Stärke gebildet hatte. Es zeigt sich dann nämlich augenblicklich eine tiefschwarze, langdauernde Färbung des Mesophylls, während bei fehlender Stärke nach Behandlung mit Jod-Äther nur eine schwache Braunfärbung eintritt [4]). — Die neuerdings angegebene „Gasdiffusionsmethode" kann ebenfalls zur Veranschaulichung des Öffnungszustandes der Spaltöffnungen benutzt werden [5]). Die betreffenden Pflanzenteile werden dabei einfach Ammoniak-Dämpfen ausgesetzt. Es zeigt sich dann, daß in grünen Blättern mit geöffneten Spalten Verfärbungen — Bräunung oder Schwärzung — infolge Abtötung der Zellen eintreten. Bei anthozyanreichen Blättern stellt sich, je nach dem Öffnungszustand der Spalten, schneller oder weniger schnell ein Farbenumschlag von Rot in Blau ein. Diese Gasdiffusionsmethode bewährt sich u. a. auch bei Objekten, bei welchen die anderen Methoden meist versagen, so bei dicht behaarten Blättern und bei Koniferen-Nadeln [6]). — Auch auf mikroskopischem Wege läßt sich die Weite der Spaltöffnungen feststellen. Man streift zu dem Zweck ein Epidermisstückchen von lebenden Blättern ab, taucht es rasch in Alk. abs., wonach die Spaltöffnungen dieselbe Spaltweise wie im Leben zeigen [7]).

Ein anziehendes Experiment ist es, durch den elektrischen Schlag die Spaltöffnungen zum Verschluß zu bringen. Die Wirkung ist eine überaus schnelle; die Spalten schließen sich unter den Augen des Beobachters. Es handelt sich hierbei aber nicht um eine spezifische Reizerscheinung, vielmehr nur um eine Folge des eintretenden Todes der Schließzellen. Zum Versuch ist ein elektrischer Objektträger zu benutzen. Einen solchen stellt man für diesen Versuch in einfachster Weise dadurch her, daß man auf einen Objektträger zwei etwa gleichschenklige, dreieckige Stanniolstreifen in der Weise aufklebt, daß sie einander die Spitzen zukehren und dort durch einen nur geringen Abstand, groß genug, um das Präparat aufzunehmen, voneinander

---

[1]) Z. Kamerling, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXI, 1913, S. 484.

[2]) E. Stein, Ber d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXX, 1912, S. 66, auch Dieselbe, Dissert., Jena 1913.

[3]) M. G. Stålfelt, Svensk. bot. Tidskr., Bd. X, 1916, S. 37.

[4]) F. W. Neger, Ber. d. Deut. bot. Ges., Bd. XXX, 1912, S. 93.

[5]) Fr. Weber, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXIV, 1916, S. 174.

[6]) Über Methoden, die für Koniferen-Nadeln besonders geeignet sind, vgl. F. W. Neger, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXX, 1912, S. 179 ff., und A. Dengler, Ebenda, S. 452. S. a. F. W. Neger, Die Naturwissenschaften, III. Jahrg., 1915, S. 239 ff.

[7]) Nach F. E. Lloyd, Carnegie-Inst., Washington 1908, Publ. No. 82.

getrennt sind. Die Verbindung mit dem Leitungsdraht läßt sich durch zwei Federklammern herstellen, denjenigen entsprechend, die sich auf dem Objekttisch befinden, die aber zu diesem Zweck nicht mit Metallstiften, sondern mit Kautschukstäbchen in den Löchern des Objekttisches festgesteckt sind. Diese Federklammern werden den Stanniolstreifen angedrückt, andererseits die Leitungsdrähte an ihnen befestigt. — Ein etwas anders zusammengesetzter elektrischer Objektträger, den man sich ebenfalls selber einrichten kann, wurde von Stroebelt[1]) vorgeschlagen. Er besteht aus einem gewöhnlichen Objektträger, dessen beide Enden sowohl auf der Ober- wie auf der Unterseite mit gleichweit übergreifenden Stanniolkappen bedeckt sind. Unter diese Kappen steckt man zwei mit schmäleren oder breiteren Spitzen versehene, bewegliche Stanniolstreifen. Der so hergerichtete Objektträger wird auf einen größeren derartig gelegt, daß die Stanniolkappen mit den auf diesen letzteren geklebten Stanniolplättchen in Berührung kommen; die Stanniolplättchen bringt man dann durch entsprechend befestigte Kupferdrähte mit der Elektrizitätsquelle in Verbindung. — Ähnlich wie der erstgenannte elektrische Objektträger eingerichtet ist der elektrische Objekttisch, den *E. Leitz* anfertigt (*Leitz* Katalog 46 D, 1920, Nr. 149, Preis 1000 M). Er besteht aus einer auf dem Objekttisch des Mikroskops zu befestigenden Hartgummiplatte mit 2 Klemmschrauben und 2 vernickelten Federn, die an ihrer Spitze feine Platindrähte besitzen (vgl. Fig. 94); durch sie wird dem Objekt Strom zugeführt. Bei Bestellung ist das zur Verwendung kommende Stativ anzugeben. — Über die komplizierter gebaute Engelmannsche feuchte Kammer, die auch als elektrische Kammer dienen kann, s. Reg. IV. — Als Elektrizitätsquelle kann ein kleines Bunsensches oder Grovesches Element oder auch ein Tauch-Element dienen, in Verbindung mit einem kleinen Induktionsapparat, wie sie in physiologischen Laboratorien in Anwendung kommen. — Um einen entsprechenden Versuch selber anzustellen, wollen wir einen abgezogenen Epidermisstreifen, etwa von einer Lilium-Art, den wir zwischen die beiden Stanniolstreifen auf dem Objektträger einschalten, verwenden. Unser Präparat liegt in einem Wassertropfen und ist mit Deckglas bedeckt. Wir überzeugen uns zunächst davon, daß die Spaltöffnungen geöffnet sind, und schließen hierauf den Strom. Nach Ablauf von 5—10 Sek. sind dann, hinreichende Intensität der Induktionsschläge vorausgesetzt, die Spalten fast sämtlicher Spaltöffnungen geschlossen. Eine Spaltöffnung, in welcher der Induktionsschlag eine Schließung veranlaßt hat, ist aber nicht befähigt, sich wieder zu öffnen; man stellt vielmehr

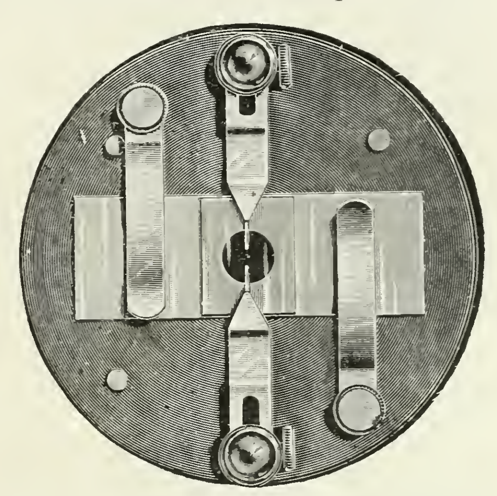


Fig. 94. Elektrischer Objekttisch von *E. Leitz*.

[1]) O. Stroebelt, Zeitschr. f. Instrumentenkunde, Bd. II, S. 274.

fest. daß sich alsbald Zersetzungserscheinungen im Zelleib einstellen, meist verbunden mit einer deutlichen Kontraktion desselben.

Die wintergrünen Blätter zeichnen sich in bezug auf das Verhalten ihrer Schließzellen durch manche Eigentümlichkeiten aus[1]). Ihre Spaltöffnungen sind den ganzen Winter über geschlossen, und es ist ein tagelanger, unter Umständen selbst wochenlanger Aufenthalt in geheiztem Raum notwendig, um ihr Öffnen zu bewirken. Während die Schließzellen der Spaltöffnungen bekanntlich stets Chloroplasten führen, sich durch ihren konstanten Stärkegehalt innerhalb dieser auszeichnen und ihre Stärke, im Gegensatz zu den Mesophyllzellen, selbst im Dunkeln längere Zeit behalten, ja sogar in etiolierten Pflanzen, deren Stengel und Blätter vollkommen stärkefrei sind, Stärke führen, sie auch in den im Herbst abgeworfenen Blättern meist noch aufweisen, schwindet aus den Spaltöffnungen und dem Mesophyll wintergrüner Blätter die Stärke während der kalten Jahreszeit fast immer[2]) gänzlich. Durch Fehlingsche Lösung läßt sich aber feststellen, daß vielfach Glykose in den Schließzellen und reichlich auch in allen Mesophyllzellen vertreten ist. Werden die Blätter in einen warmen Raum gebracht, so regeneriert sich in den Schließzellen, auch im Dunkeln, Stärke aus der Glykose: nicht so in den Mesophyllzellen, weil diesen infolge des Verschlusses der Spaltöffnungen der für jene Regeneration notwendige Sauerstoff fehlt. Einschnitte in das Blatt genügen, um lokale Stärkebildung zu veranlassen. Außer Glykose finden sich oft auch Gerbstoffe und Öl, manchmal in großer Menge, in den Schließzellen, vielfach auch in den ihnen benachbarten Epidermiszellen. Als Stoff von wenig wirksamer osmotischer Kraft soll zumal das Öl ein im Winter leicht zu Schädigungen führendes Öffnen der Spalten hintanhalten[3]). Im Gegensatz zu den übrigen Zellen der Epidermis und denen des Mesophylls erweisen sich die Schließzellen besonders widerstandsfähig gegen Kälte und andere schädigende Einflüsse[4]).

Sehr stark auf ihrer Außenseite verdickte Oberhautzellen und dementsprechend tief in die Oberhaut eingesenkte Spaltöffnungen besitzen die Aloë- und Agave-Arten. Wir wählen zur Untersuchung, weil besonders lehrreich und nicht schwer zu präparieren, die in Gewächshäusern verbreitete A l o ë n i g r i c a n s mit zungenförmigen, zweireihig angeordneten Blättern. Andere Spezies von Aloë können nötigenfalls für die genannte Ersatz bieten. Die Epidermis der Ober- wie der Unterseite erscheint auf Flächenschnitten von regelmäßig polygonalen (meist sechseckigen) Zellen gebildet. Das Lumen jeder dieser Zellen ist auf einen relativ kleinen, abgerundeten Raum reduziert. Dieser Raum erscheint schwarz, weil das Messer die Zellen von unten her öffnete, und die Lumina sich mit Luft anfüllten. Die Spaltöffnungen befinden sich auf beiden Seiten des Blattes; tiefe Grübchen führen auf sie hin. Diese Grübchen sind stets von vier Zellen, „Nebenzellen", umgeben und haben rechteckigen Umriß; ein etwas vorspringender Rahmen umfaßt sie. Will man die Schließ-

---

[1]) B. Lidforss, Bot. Zentralbl., Bd. LXVIII, 1896, S. 33; ferner Derselbe in Lunds Univ. Årskr., N. F., Afd. 2, Bd. II, 1907. S. a. F. Hagen, l. c., 1916. S, 275 ff.

[2]) Vgl. dazu auch G. Engel, Dissert., Göttingen 1915.

[3]) F. Hagen, l. c., 1916, S. 278 ff.

[4]) V. Kindermann, Sitzber. K. Ak. d. Wiss., Wien, Math.-Nat. Kl., Bd. IX, Abt. I, Juli 1902.

zellen sehen, so ist der Schnitt mit der Innenseite nach oben auf den Objektträger zu legen. Die Schließzellen sind relativ breit und kurz; sie führen, wie sich das mit Jod leicht nachweisen läßt, reichlich Stärke. Die Querschnitte stellen wir, weil die Epidermis hier sehr hart ist, zwischen zwei Flaschenkorkstückchen her. Wir nehmen nicht die ganze Dicke des Blattes, heben vielmehr ein etwa 1 mm dickes Stück Gewebe von der einen Blattfläche ab. Da die Spaltöffnungen parallel zur Längsachse des Blattes laufen, so richten wir das Blattstück so, daß es rechtwinklig zu dieser Achse getroffen wird. Wir führen die Schnitte von den inneren gegen die äußeren, d. h. von den weichen gegen die härteren Gewebeteile. — Die starke Verdickung der Oberhautzellen fällt sofort an diesen Schnitten auf (Fig. 95); diese Verdickung trifft ausschließlich die nach außen gekehrte Hälfte der Zelle; dementsprechend verengt sich das Lumen der Zelle nach außen. Die verdickten Wandteile sind weiß, stärker lichtbrechend und werden von einer noch stärker das Licht brechenden, doch nicht scharf abgesetzten Kutikula überzogen. Die seitlichen Grenzen der Zellen sind nur durch zarte Linien in der verdickten Masse, außen durch einen schwachen Wulst markiert. Das Innere der stark lichtbrechenden Verdickungsschicht wird durch eine relativ schmale, schwächer lichtbrechende Schicht ausgekleidet (*i*). Diese umgibt somit zunächst den kegelförmig verschmälerten Teil des Zellumens; sie hört, sich allmählich auskeilend, gleichzeitig mit der lichtbrechenden Verdickungsschicht an den Seitenwänden auf. Diese ganzen verdickten Teile der Epidermis sehen wie ein in regelmäßige Zacken geschnittener Vorhang aus. An der Stelle, wo ein nach der Spaltöffnung führendes Grübchen sich befindet, ist zunächst der Vorsprung zu sehen, der als Rahmen das Grübchen einfaßt, weiter festzustellen, daß die Zacken, welche die Verdickungsschichten bilden, hier einseitig halbiert sind und auch nur halbe Höhe besitzen. Die Schließzellen zeigen oben und unten an der Spaltseite einen leistenförmigen Aufsatz, der im Querschnitt schnabelförmig erscheint. Über den Schließzellen befinden sich die verdünnten Stellen der Wand als Hautgelenke. Die Atemhöhle ist schmal und tief. Häufig ist eine parallele, mehr oder weniger geneigte Streifung an den verdickten Wänden der Oberhautzellen zu beobachten; sie wird durch das Messer beim Schneiden veranlaßt und stellt sich nicht selten an harten, elastischen Objekten in derselben Weise ein. — Mit Chlorzinkjodlösung behandelte Schnitte zeigen die stark lichtbrechende Verdickungsschicht gelbbraun gefärbt; sie ist kutinisiert. Die innere Auskleidung dieser Schicht (*i*) färbt sich

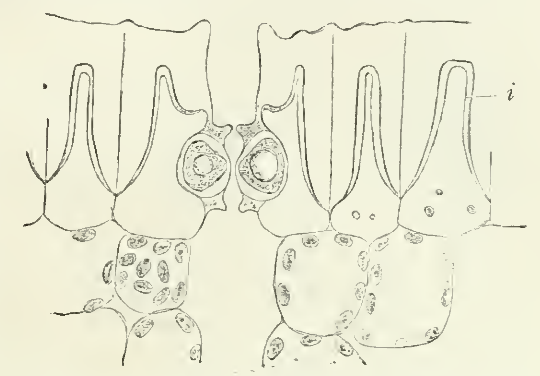


Fig. 95. Querschnitt durch die Epidermis und Spaltöffnung von Aloë nigricans. *i* innere Verdickungsschicht. Vergr. 240.

hingegen violett und ebenso die Zellwände des übrigen Blattgewebes. Die gelbbraune Färbung geht durch das Scharnier auf die Vorsprünge über, die den Schließzellen oben und unten aufsitzen. Im übrigen sind die Schließzellen violett gefärbt. Bei Behandlung mit konz. Schwefelsäure und Chromsäure bleiben nur die kutinisierten, festonartig nach innen vorspringenden Verdickungsschichten samt Kutikula erhalten. Die Kutikula setzt sich über die Schließzellen bis zur Ursprungsstelle der chlorophyllhaltigen Mesophyllzellen fort[1]). Die Kutikularschichten und die Kutikula nehmen in der Schwefelsäure eine braune Färbung an[2]).

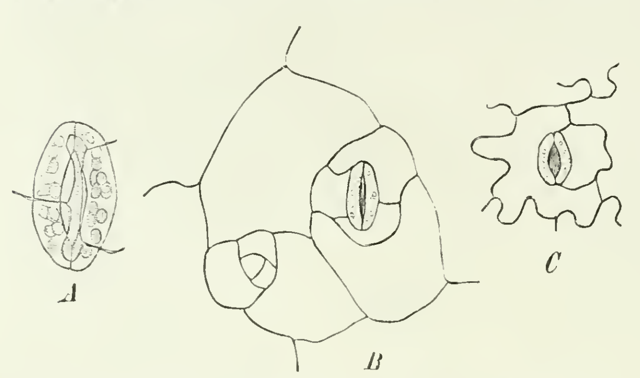


Fig. 96. *A* und *B* Sedum Telephium, Blattunterseite. *A* Spaltöffnung mit Andeutung der unter ihr zusammenschließenden Nebenzellen *B* Epidermis mit einer fertigen Spaltöffnung und den unfertigen Anlagen. *C* Mercurialis annua, Blattunterseite. Epidermiszellen mit Spaltöffnung. *A* 540, *B* und *C* 240mal vergrößert.

Von den Blättern von Sedum Telephium und anderen Crassulaceen läßt sich die Epidermis außerordentlich leicht mit der Pinzette abziehen. Die Spaltöffnungen sind an der Oberseite viel weniger zahlreich. Jeder Spaltöffnungsapparat ist so gebaut, wie unsere Figur 96 *A* es zeigt. Bei tieferer Einstellung fällt es auf, daß die benachbarten Oberhautzellen unter die Schließzellen greifen, nur einen engen Spalt dort frei lassend. Dieses Verhältnis ist in der Fig. *A* angegeben. Weiter bemerkt man, daß jede Spaltöffnung von drei angrenzenden Oberhautzellen umgeben ist. Diese drei Zellen sind die „Nebenzellen", die unter die Spaltöffnung vorgreifen. Der Grund zu der Konstanz der drei Zellen liegt in der Entwicklungsgeschichte, die sich hier sehr leicht verfolgen läßt. Selbst in der Epidermis ausgewachsener Blätter trifft man nämlich Zellen, in denen nachträglich die Teilungen zur Bildung von Spaltöffnungen begannen, aber nicht mehr ihren Abschluß fanden. Solche unvollendete Anlagen führen uns mit schematischer Klarheit den ganzen Entwicklungsgang vor (vgl. Fig. 96 *B*). Augenscheinlich folgen hier die Scheidewände in einer Spirale aufeinander, in der die vierte Wand parallel der ersten fällt. Sie umschreiben so einen dreieckigen, durch jeden Teilungsschritt kleiner werdenden Raum. Die innerste Zelle wird normalerweise schließlich zur Mutterzelle der Spaltöffnung und muß daher von drei Zellen umgeben sein. In dem hier abgebildeten Fall war durch eine Scheidewand die Ecke einer Oberhautzelle abgeschnitten worden, hierauf folgten noch vier Teilungsschritte, die mittlere Zelle entwickelte sich aber dann nicht weiter.

---

[1]) Gasparini und Licopoli in F. Lange, Bot. Ztg., LXVIII, Jahrg., 1910, 1. T., Orig.-Abh., S. 6.

[2]) Vgl. im übrigen betr. Kutikula und Kork den XIV. Abschnitt.

Mercurialis annua, das einjährige Bingelkraut, führt nur an der Unterseite des Blattes Spaltöffnungen und, was uns bisher nicht begegnet war, Chlorophyllkörner, wenn auch nicht sehr zahlreich, in der Epidermis. Die kleinen Spaltöffnungen (Fig. 96 *C*) zeigen auch eine ganz bestimmte Beziehung zu den angrenzenden Epidermiszellen, doch sind es hier fast stets zwei Zellen, die an eine Spaltöffnung stoßen. Die vorbereitende Teilung erfolgt in diesem Fall nämlich durch U-förmige, abwechselnd nach zwei entgegengesetzten Seiten vorgewölbte Scheidewände, und die mittlere, inhaltsreiche Zelle wird schließlich zu der Mutterzelle der Spaltöffnung. Diese liefert durch eine in ihrer Richtung mit der vorausgehenden übereinstimmende Teilung die beiden Schließzellen. Das alles ist aus der Betrachtung auch des fertigen Zustandes zu entnehmen.

In der Anordnung der Spaltöffnungen innerhalb der Epidermis kommen mannigfache Verschiedenheiten vor. Ein ganz merkwürdiges Verhalten ist das, wo die Spaltöffnungen von je einer einzigen ringförmigen Oberhautzelle umfaßt werden. Zu beobachten ist dieser eigentümliche Fall bei Aneimia fraxinifolia, einem Farnkraut, das in jedem botanischen Garten zu finden ist. Die Zellen der Epidermis haben stark welligen Umriß (Fig. 97) und gewinnen durch diese gegenseitige Verzahnung, die sehr häufig bei Epidermiszellen vorkommt, an Festigkeit. Wie alle übrigen Farnkräuter führt auch Aneimia reichlich Chlorophyllkörner in der Epidermis. Hier ist somit eine solche Arbeitsteilung, wie bei den meisten Phanerogamen, nicht durchgeführt; die Epidermis gehört mit zum assimilatorischen Gewebe. Die Spaltöffnung steckt in der sie umgebenden Oberhautzelle gleichsam wie in einem Rahmen. Querschnitte (rechtwinklig zu den Seitennerven) lehren, daß die Spaltöffnung etwas über die Fläche der Epidermis hervorragt. — Dieser extreme Fall ist durch Zwischenformen, auf die wir nicht weiter eingehen wollen, mit anderen weniger auffallenden verbunden. Wir brauchen uns in der Tat die Spaltöffnung nur bis an die Seitenwand der sie umgebenden Oberhautzelle gerückt zu denken, damit das Ungewohnte ihrer Insertion wegfalle.

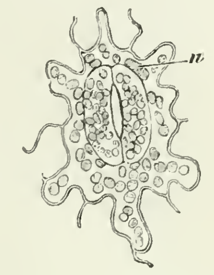


Fig. 97. Aneimia fraxinifolia. Spaltöffnung, von einer Oberhautzelle umgeben. *n* Zellkern der Oberhautzelle. Vergr. 240.

Ein eigentümliches Verhalten zeigt auch der Oleander, Nerium Oleander. Weder an der Oberseite noch an der Unterseite des Blattes sieht man zunächst Spaltöffnungen. Es tritt uns vielmehr übereinstimmend auf beiden Seiten eine relativ kleinzellige Epidermis entgegen, die namentlich an der Unterseite mit kurzen, fast bis zum Schwinden des Lumens verdickten, einzelligen Haaren besetzt ist. Auf der Unterseite des Blattes fallen uns aber größere oder kleinere Vertiefungen auf, die mit Luft erfüllt sind und an ihrem Rande kurze, den vorerwähnten gleichgestaltete, doch schwächer verdickte Haare tragen. Diese Haare schließen, ineinandergreifend, die Höhlung nach außen ab. Ein zweiter Flächenschnitt von der Unterseite des Blattes, derselben Stelle entnommen, an der zuvor schon die Epidermis entfernt wurde, läßt uns stellenweise einen Einblick in die Tiefe der Höhlungen gewinnen. Hierzu ist übrigens nötig, daß zuvor unter der Luftpumpe oder durch Eintauchen der Schnitte in Alkohol die Luft aus den Höhlungen entfernt wurde. Da zeigt es sich, daß aus den Wänden der Höhlung kleine, kegelförmige Erhebungen, deren Scheitel von je einer

Spaltöffnung abgeschlossen werden, hervorragen. Die Seitenwände der kleinen Kegel bestehen aus Oberhautzellen, die eine bis an die Spaltöffnung reichende Atemhöhle umhüllen. Zwischen den die Spaltöffnungen tragenden Kegeln entspringen den Wänden der Höhlung dieselben Haare, die wir zuvor an den Rändern dieser Höhlung sahen.

Wir wollen an einem besonders günstigen Objekt auch die Wasserporen oder Wasserspalten kennen lernen. Sie zeigen ähnlichen Bau wie die Luftspalten, die wir kurzweg als „Spaltöffnungen" bezeichnet haben, nur sind sie meist größer und weisen mehr oder minder starke Rückbildungen in einzelnen anatomischen Merkmalen auf[1]). Der Spalt, nebst dem unter ihm befindlichen Interzellularraum ist wenigstens zeitweise mit Wasser erfüllt[2]). Die Schließzellen dieser Wasserspalten sterben meist frühzeitig ab, werden dann unbeweglich und lassen den Spalt zwischen sich weit offen stehen. Das günstigste Objekt für das Studium dieser Wasserspalten ist Tropaeolum majus, die Kapuzinerkresse, die sich auch zur Winterzeit im Gewächshaus halten läßt. Die Wasserspalten befinden sich an der Oberseite des Blattes und zwar über den Enden der Hauptnerven. Dort pflegt der Blattrand eine kleine Vertiefung aufzuweisen. Man kann die Wasserspalten schon annähernd sehen, wenn man ein entsprechendes Stück des Blattes seiner ganzen Dicke nach unter Wasser, mit Deckglas überdeckt, ins Gesichtsfeld des Mikroskops bringt. Die Einzelheiten werden freilich erst auf Flächenschnitten kenntlich, die man von der betreffenden Stelle des Blattrandes entnimmt. Eine Wasserspalte zeigt sich dann so, wie die obenstehende Fig. 98. Der tote Inhalt der Schließzellen hat für gewöhnlich eine sehr starke Reduktion erfahren. Man findet stets mehrere Wasserspalten in geringer Entfernung voneinander.

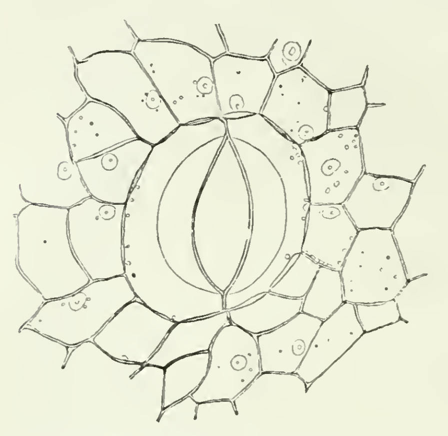


Fig. 98. Wasserspalte vom Blattrand von Tropaeolum majus, nebst angrenzenden Epidermiszellen. Vergr. 240.

Ein geeignetes Objekt für das Studium der Wasserspalten geben auch die überall in Kultur befindlichen Fuchsien ab[3]); doch ist die Präparation etwas schwieriger, da die Wasserspalten hier einzeln die Spitzen der Blattzähne einnehmen. Es gilt somit, Schnitte zu führen, durch welche die Spitzen der einzelnen kegelförmigen Blattzähne abgetragen werden. Diese müssen auch im Präparat aufrechte Stellung bewahren. Die Schließzellen behalten hier, im Gegensatz zu Tropaeolum, ihren lebenden Inhalt und führen ziemlich viel Chlorophyllkörner. Zusatz von Kalilauge erleichtert den Einblick auch in dickere Präparate.

[1]) E. Neumann-Reichardt, Beitr. z. allgem. Bot., herausg. v. G. Haberlandt, I. Bd., 3 H., 1917, S. 302ff.

[2]) Vgl. auch XV. Abschn. bei Epithem.

[3]) Vgl. G. Haberlandt, Sitzber. K. Akad. d. Wiss. Wien, Math.-Nat. Kl., Bd. CIV, 1895, S. 70, und Physiol. Pflanzenanatomie, 5. Aufl., Leipzig, 1918, S. 461.

Eigenartige, anscheinend auch der Wasserabgabe[1]) dienende Bildungen finden wir auf der Unterseite der Blätter vieler Wasser- und Sumpfpflanzen. Betrachten wir z. B. Flächenschnitte von der Unterseite der submersen Blätter von Sagittaria sagittifolia oder solche von den Schwimmblättern der unschwer zu beschaffenden Sagittaria natans, so zeigen sich da über den Nerven erster Ordnung längere Streifen von Zellen, die gegenüber den benachbarten Epidermiszellen durch bedeutend geringere Länge, sowie durch gelbliche Färbung auffallen. Auch an den Nerven zweiter und dritter Ordnung sind diese Zellstreifen bzw. Zellgruppen zu sehen; sie sind dort aber kürzer (vgl. Fig. 99). Außerdem begleiten sie den Blattrand, und zwar auf der Unterseite in einer Breite von 6, auf der Oberseite von 2 Zellreihen. Bei Schwimmblättern finden sie sich an dem Stiel und an der Blattunterseite, bei Luftblättern dagegen nur an dem untergetauchten Teil des Stiels. Ihre Außenwände sind meist dicker als die der benachbarten Epidermiszellen; ihre Kutikula ist chemisch verändert. Alle ihre Wände sind mit einer besonderen Substanz imprägniert, die sich in kalter und heißer konz. Schwefelsäure als unlöslich, dagegen löslich in Eau de Javelle und in 50-proz. Chromsäure erweist. Sie werden durch kalte Kalilauge gelb, durch heiße bräunlich gefärbt; Gentianaviolett, Fuchsin und Anilinblau werden von ihnen stark gespeichert. Die Kalilaugereaktion führen wir am besten so aus, daß wir die Schnitte auf den Objektträger in Kalilauge legen und über einer Flamme erwärmen. Die Färbung mit Farbstoffen z. B. Gentianaviolett nehmen wir vor, indem wir das unverletzte Blatt auf der Farblösung so lange schwimmen lassen, bis die Zellgruppen dieser Gebilde deutlich hervortreten.



Fig. 99. „Hydropote“ der Blattunterseite von Sagittaria natans. Vergr. 280.

[1]) Sie dienen nach neueren Untersuchungen von W. Riede, Flora, Bd. CXIV, 1921, S. 3 ff. und 78 ff., nicht der Wasseraufnahme, wie F. Mayr, Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. XXXII, 1. Abt., 1915, S. 278 ff., angab, der sie deshalb „Hydropoten“ nannte.

An der Oberseite von Blättern verschiedener Pflanzenarten zeigen sich die Außenwände der Oberhautzellen sehr auffällig linsenförmig verdickt. Dies ist z. B. bei Campanula persicifolia, einer allgemein verbreiteten Glockenblumenart, der Fall. Brauchbare Präparate der Epidermis kann man sich da auf einfache Weise verschaffen, indem man mit dem Skalpell in der Nähe der Mittelrippe des Blattes einen Einschnitt macht, hier die Haut mit der Pinzette faßt und nach dem Blattrand zu abzieht, was sich bei dieser Campanula-Art leicht bewerkstelligen läßt. Das so gewonnene Häutchen wird, mit seiner Außenseite nach oben gekehrt, in Wasser untersucht. Man sieht jetzt, daß die Epidermis von annähernd isodiametrischen, dicht aneinanderschließenden, wellig umgrenzten Zellen aufgebaut ist (vgl. Fig. 100 *A*). In der Mitte der dem Blattrand genäherten Zellen werden wir, und zwar besonders schön dann, wenn wir die übrigens überwinternden grundständigen Blätter zur Untersuchung nahmen, je einen kreisrunden oder elliptischen, hellen Körper erkennen (*L*). Er ist verkieselt, stark lichtbrechend und wirkt nach Haberlandt[1]) bei der Lichtperzeption durch das Blatt als Sammellinse. An Querschnitten durch Längsstreifen der Blätter, die den Blattrand in sich fassen und wie bei Iris zum Schneiden zwischen Holundermark eingespannt wurden, läßt sich feststellen, daß die „Sammellinsen" bikonvex sind (Fig. 100 *B*).

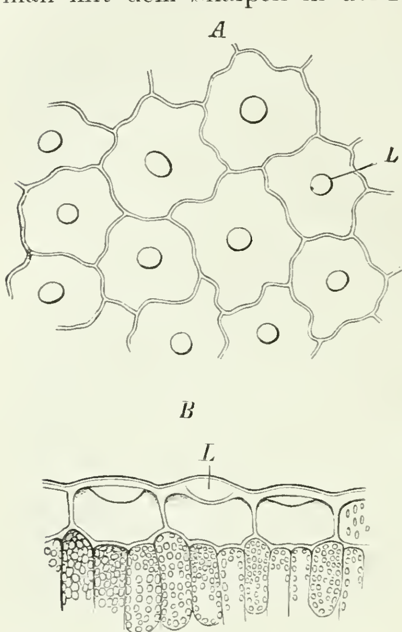


Fig. 100. Epidermis der Blattoberseite von Campanula persicifolia. *A* von oben, *B* im Querschnitt. *L* Sammellinsen. Vergr. 240.

Durch einen leicht anzustellenden physikalischen Versuch, den „Linsenversuch"[2]), kann man sich von der lichtsammelnden Kraft der runden Kieselsäuregebilde der Epidermis von Campanula persicifolia überzeugen. Das entweder durch einen Rasiermesserschnitt oder durch vorsichtiges Abziehen gewonnene, vom Rand der Blattoberseite stammende Epidermisstückchen wird auf ein schwach benetztes Deckgläschen gebracht, wobei man dafür Sorge tragen muß, daß die Außenwände trocken bleiben. Das Deckgläschen legt man nun, mit der das Präparat tragenden Seite nach abwärts, auf den Glasring einer feuchten Kammer, die man auf den Tisch des Mikroskops bringt. Die Beleuchtung vollzieht man mit dem diffuses Tageslicht reflektierenden Planspiegel. Beim Einstellen auf die Innenwände der Epidermiszellen läßt sich dann bei ungefähr senkrechtem Lichteinfall eine hell erscheinende Mittelpartie und eine dunklere Randzone unterscheiden.

[1]) G. Haberlandt, Die Lichtsinnesorgane der Laubblätter, 1905; ferner Derselbe, l. c. 1918, S. 574 ff.

[2]) G. Haberlandt, zuletzt l. c. 1918, S. 575.

VII. Abschnitt.

Haare. Emergenzen. Schleim. Gummi und Harz. Wachs.

Aggregationserscheinungen. Blauglanz.

Untersuchungsmaterial.

Blätter von Cheiranthus Cheiri. Blätter von Matthiola annua. Blüten von Centaurea Jacea oder von C. Cyanus. Blüten von Verbascum nigrum. Blätter von Verbascum thapsiforme. Blätter von Shepherdia canadensis oder von Elaeagnus angustifolia. Stengel einer Rosa-Art. Junge Sprosse von Urtica dioica oder U. urens. Sprosse von Primula sinensis oder von Pelargonium zonale. Winterknospen der Roßkastanie. Blätter von Echeveria globosa. Blätter von Eucalyptus globulus. Stengel von Secale cereale. Stengel von Saccharum officinarum. Alle diese Objekte frisch, die Winterknospen der Roßkastanie evtl. als Alkoholmaterial.

Blüten von Viola tricolor. Junge Wedel von Asplenium bulbiferum. Blattscheiden von Rumex Patientia. Blätter von Drosera rotundifolia. Blätter von Selaginella laevigata oder S. caesia, ferner von Glechoma hederacea oder Sambucus nigra.

Wichtigste Reagentien und Farbstoffe.

Essigsäure. — Kalilauge. — Salzsäure. — Konz. Schwefelsäure. — 20-proz. Chromsäure. — Alkohol. — Rosanilinviolett.

Wir kennen bereits die Wurzelhaare von Hydrocharis morsus ranae und wollen, da es sich bei Wurzelhaaren stets um ähnliche, einzellige Schläuche handelt, von deren weiterer Untersuchung absehen. Wir haben auch die zu kegelförmigen Papillen vorgewölbten Epidermiszellen zahlreicher Blumenblätter (Tropaeolum, Rosa) zu sehen bekommen; so auch die von tonnenförmig angeschwollenen Zellen gebildeten Staubfadenhaare von Tradescantia (Fig. 76); endlich auch die aus vielzelligem Grunde in einen einfachen, sich zuspitzenden Faden auslaufenden Haare von Cucurbita.

Mannigfaltige Pflanzenhaare sind uns somit schon bekannt, doch gilt es noch, unsere Erfahrung entsprechend zu vervollständigen.

Verschiedene Formen einzelliger, vielfach verzweigter Haare treten uns auf den Blättern und Stengeln der Cruciferen entgegen. Beim Goldlack (Cheiranthus Cheiri) sieht man an Blättern und Stengeln spießförmige Gebilde (Fig. 101 *A*) mit engem, gegen die beiden Enden zu schwindendem Lumen. Diese einzelligen Spieße zeigen sich an ihrer Außenfläche mit Höckern besetzt, und zwar mit größeren Höckern in geringerer, mit kleineren in größerer Zahl. Da diese Spieße alle parallel zur Längsachse des Blattes gerichtet sind, so fällt es nicht schwer, gute Querschnitte durch sie zu bekommen. Es gilt freilich, die Insertionsstelle eines Haares in mittlerer Länge

zu treffen, und man muß daher, um dies zu erreichen, zahlreiche Schnitte ausführen. Da sieht man (Fig. 101 *B*), daß die Insertionsstelle eines jeden Haares etwas vertieft liegt, und daß die Epidermiszelle, die sich draußen zum Haarkörper ausweitet, schmäler als ihre Nachbarinnen ist, daß sie sich am Grunde, etwas anschwellend, abrundet und tiefer in das angrenzende Gewebe reicht. Sie bildet dort den „Fuß" des Haares. Längsschnitte durch das Blatt lehren, daß der Fuß in der Längsrichtung des Blattes nicht breiter als in der

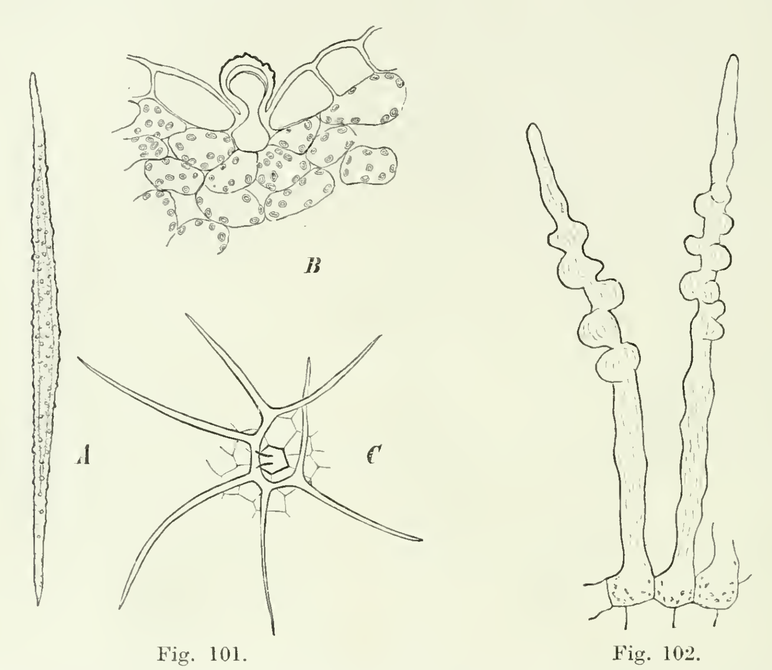


Fig. 101. Fig. 102.

Fig. 101. *A* und *B* Haar von der Blattunterseite von Cheiranthus Cheiri. *A* von oben. Vergr. 90. *B* im Querschnitt. Vergr. 240. *C* Haar von der Blattunterseite von Matthiola annua von oben. Vergr. 90.

Fig. 102. Haare aus der Rinne des unteren Kronblattes von Viola tricolor. Vergr. 240.

Querrichtung ist; man stellt zugleich fest, daß sich das Lumen des Fußes ohne Abgrenzung in das Lumen des Haarkörpers fortsetzt. Von der Gestalt des Fußes erhält man ein noch vollständigeres Bild, wenn man einen dünnen Flächenschnitt mit der Unterseite nach oben kehrt. Der Fuß ist im Querschnitt kreisrund. Auch fällt es jetzt auf, daß die chlorophyllhaltigen Zellen des Blattgewebes radial, ohne Lücken, an den unter der Epidermis vorspringenden, etwas erweiterten Teil des Fußes ansetzen.

Wiederholt in einer Ebene verzweigt sind die Haare auf den Blättern und Stengeln der einjährigen Levkoje (M a t t h i o l a a n n u a , Fig. 101 *C*), die sich nach Abschneiden der Blütenstände bis in den Winter hinein halten läßt. Diese Haare sitzen besonders auf der Blattunterseite so dicht beisammen, daß ihre Zweige ineinander greifen. Das Lumen des Haarkörpers ist infolge der starken Ver-

dickung der Wände fast geschwunden. Höcker treten auf der Oberfläche kaum hervor. Sehr instruktiv ist die Ansicht der Epidermis von der Innenseite; denn sie zeigt eine nicht unbedeutende Anschwellung des kugeligen Haarfußes und eine besonders schöne radiale Anordnung der chlorophyllhaltigen Blattzellen zu ihm.

Sehr eigentümlich gestaltet sind die einzelligen langen Haare (Fig. 102) in der Rinne des unteren, spornartig verlängerten Blumenblattes von Viola tricolor, dem Stiefmütterchen. Man bekommt sie sehr gut zu sehen, wenn man Querschnitte durch das untere Kronblatt dicht unter der Stelle ausführt, wo es sich rinnenförmig zusammenlegt. Die betreffenden Epidermiszellen wachsen fast in ihrer ganzen Breite zu einem Haar aus. Dieses ist mit unregelmäßigen, knorrigen Auftreibungen bedeckt. Die Kutikula des Haares zeigt längsverlaufende Leisten. Der Zellsaft ist farblos, doch sind gelbe Farbkörper öfters im Wandplasma vorhanden.

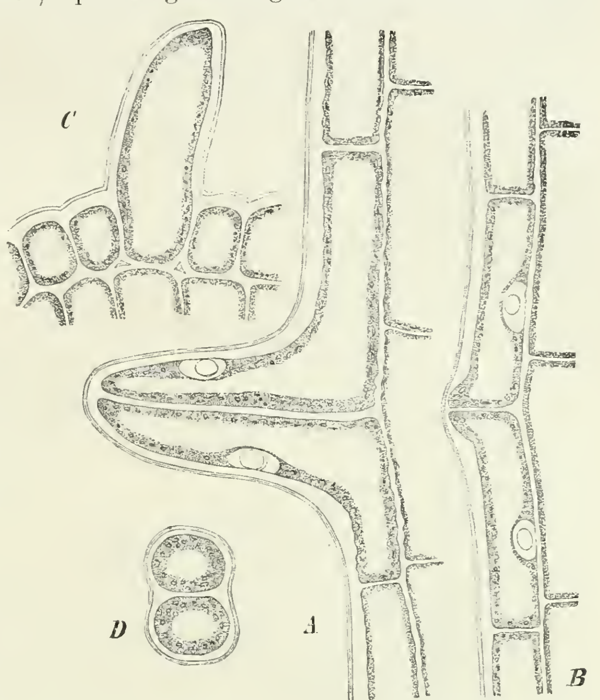


Fig. 103. Fühlhaare *A*, *C*, *D* und Fühlpapille *B* eines Staubfadens von Centaurea Jacea. *A* und *B* im Längsschnitt des Staubfadens, *C* im Querschnitt des Staubfadens, *D* Querschnitt eines Fühlhaares. Vergr. 450.

Ein besonderes Interesse bietet die Untersuchung der Staubfadenhaare in den Blüten der gemeinen Flockenblume (Centaurea Jacea). Im unteren Drittel der Staubfäden ist ihre Epidermis fast völlig glatt, im mittleren Drittel reichlich mit längeren Haaren und kürzeren Papillen besetzt, im oberen Drittel werden Haare und Papillen weit niedriger. Wir stellen uns einige Flächenschnitte aus der Mittelpartie eines Staubfadens her und untersuchen sie in Wasser mit nach oben gekehrter Epidermis. Unschwer erkennen wir da die Haare, die aus zwei langgestreckten, parallelen Zellen bestehen. Sie gehören zwei angrenzenden Zellen einer Längsreihe an, die an ihrer Berührungsstelle gemeinsam hervorwuchsen. Die haartragenden Epidermiszellen sind wesentlich breiter als ihre Nachbarinnen. Die Papillen unterscheiden sich von den Haaren durch ihre geringere, oft nur ganz unbedeutende Höhe. Zwischen den längsten Haaren und den kleinsten Papillen bestehen alle Übergänge. Mediane Längsschnitte durch die Staubfäden führen die beiden Zellen jedes Haares

(Fig. 103 *A*) und jeder Papille (*B*) vor; Querschnitte durch einen Staubfaden zeigen naturgemäß nur je eine Zelle der Haare (*C*) oder Papillen, da diese die andere deckt. An solchen Schnitten beachte man, daß die Wandung der Haare und Papillen dünner als jene der Epidermis ist, und daß ihre Dicke nach der Spitze zu noch abnimmt. Ein sichtbarer Wandbeleg aus Zytoplasma kleidet die Zellwände der Haare und Papillen aus, und je ein spindelförmiger Kern ist in ihren Zellen nachzuweisen. Diese Gebilde sind als Fühlhaare und Fühlpapillen bezeichnet worden, weil sich nachweisen ließ, daß bei ihrer Berührung Reizbewegungen der Staubfäden ausgelöst werden, sei es nun, daß sie den Reiz direkt aufnehmen[1]), sei es, daß sie nur als Stimulatoren dienen und den auf sie ausgeübten Druck auf den reizbaren Staubfaden übertragen[2]). Letztere sind im ungereizten Zustand bogig nach außen gekrümmt, nach der Berührung strecken sie sich gerade und verkürzen sich zugleich. Die bisher diesem Vorgang zuerkannte hohe Bedeutung bei der Bestäubung ist durch neuere Untersuchungen[3]) in Frage gestellt worden. — Centaurea Jacea kann mit annähernd gleichem Ergebnis durch die Kornblume (C e n t a u r e a C y a n u s) bei der Untersuchung ersetzt werden. Beide würden im Winter an Alkoholmaterial zu untersuchen sein.

Die Staubfäden in den Blüten von V e r b a s c u m n i g r u m, dem schwarzen Wollkraut, sind mit einzelligen, violetten Haaren bedeckt. Um sie zu untersuchen, entferne man die Anthere vom Filament und zerzupfe dieses mit Nadeln in einem Wassertropfen auf dem Objektträger. Die Haare sind sehr lang, an der Spitze keulenförmig angeschwollen und führen violetten Zellsaft. Die Oberfläche der Haare ist mit länglichen Höckern bedeckt, die in mehr oder weniger regelmäßigen Spiralen aufsteigen. — Verzweigte, mehrzellige Haare finden wir bei der nämlichen Pflanze an der Unterseite und den Rändern der Blumenkrone. Von oben gesehen, haben diese Haare eine gewisse Ähnlichkeit mit denen von Matthiola, doch entspringen hier alle Zweige aus gemeinsamem Mittelpunkt; jeder Zweig ist eine für sich abgeschlossene Zelle. Auch breiten sich die Zweige nicht in einer Ebene aus, steigen vielmehr unter unbestimmten Winkeln auf. Ihre Wände sind ebenso stark verdickt wie bei Matthiola; äußere Vorsprünge fehlen. Die Haare am Blattrand bieten sich in Seitenansicht dar. Der Haarkörper ist durch eine Scheidewand von der ihn tragenden Epidermiszelle abgegrenzt. Er besteht aus einem fast stets einzelligen Stiel und den diesem aufsitzenden Zweigen. Es kommen geringe Abweichungen von dem geschilderten Verhalten vor, die keiner weiteren Erklärung bedürfen. Außer diesen verzweigten Haaren trägt der Rand der Blumenkrone auch noch kleine Drüsenhaare, deren abgeflachtes Köpfchen öfters von einer stark lichtbrechenden Substanz bedeckt ist. Diese letztere wollen wir aber nicht hier, sondern an einem anderen, günstigeren Objekt studieren.

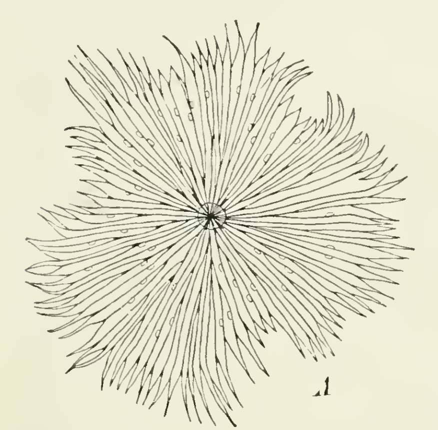
[1]) G. Haberlandt, Sinnesorgane im Pflanzenreich, 2. Aufl., 1906, S. 34 ff., und Physiologische Pflanzenanatomie, 5. Aufl., 1918, S. 544 u. 548.

[2]) K. Linsbauer, Sitzber. K. Akad. Wiss. Wien, Math.-Nat. Kl., Bd. CXIV, Abt. 1, 1905, S. 12; J. Brunn, Untersuchungen über Stoßreizbarkeit, Inaug.-Diss., Leipzig 1908.

[3]) K. Goebel, Die Entfaltungsbewegungen der Pflanzen, Jena 1920, S. 351 ff.

Man braucht sich die vielzelligen, verzweigten Haare von Verbascum nigrum nur einige Male aufeinander gesetzt zu denken, um jene zu erhalten, die den Filz auf den Blättern von Verbascum thapsiforme, dem großblumigen Wollkraut, bilden. Sie bauen sich da bis zu einer Höhe von fünf Etagen auf, wobei jede Etage von der vorhergehenden durch ein einzelliges, die Hauptachse des Haares fortsetzendes Glied getrennt wird. Die Zellen dieser Haare sind größtenteils mit Luft erfüllt. Am besten stellt man hier Querschnitte durch die Mittelrippe des Blattes her.

In dieselbe Klasse wie die verzweigten Haare, gehören die Schuppen von Shepherdia canadensis. Wir können an der



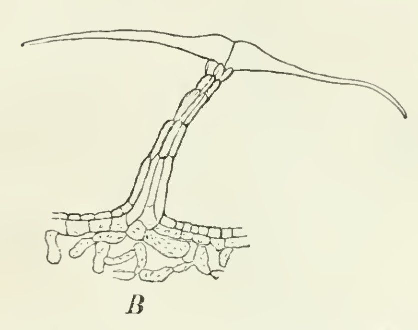


Fig. 104. Schuppen von der Blattunterseite von Shepherdia canadensis. *A* von der Fläche; *B* im Längsschnitt. Vergr. 240.

Unterseite des Blattes schon mit der Lupe lockerer gebaute, weiße und dichter gebaute, braune (Fig. 104 *A*) Sterne unterscheiden. An der Oberseite des Blattes sind nur die weißen Sterne, und zwar in geringerer Anzahl, zu finden. Die Zellen der lockeren, weißen Sterne führen, wie die mikroskopische Untersuchung lehrt, nur Luft; sie entspringen einer gemeinsamen Mitte, sind aber seitlich voneinander getrennt. Auf der Oberseite des Blattes halten sie sich nicht in einer Ebene, strahlen vielmehr morgensternartig nach allen Richtungen aus. Die Zellen der braunen Sterne erscheinen fast bis an den Rand untereinander verbunden und führen lebenden Inhalt; die Zellkerne in ihrem Innern lassen sich unschwer nachweisen. Wo ein Querschnitt durch das Blatt einen braunen Stern richtig traf (Fig. 104 *B*), zeigt er, daß der Stiel des letzteren vielzellig ist, und daß nicht allein die Epidermis, sondern auch die nächstfolgende Zellschicht sich in ihn fortsetzt. Der Stiel trägt oben die sternförmige, einschichtige, doch vielzellige Ausbreitung.

Falls Shepherdia canadensis nicht zur Verfügung steht, kann sie durch die Ölweide, Elaeagnus angustifolia, vertreten werden. Diese zeigt an der Blattunterseite nur die weißen, lufthaltigen Schuppen. Die Scheibe besteht aus seitlich isolierten oder auch fast bis zum Rand verwachsenen Zellen. Von Shepherdia wie Elaeagnus können wir im Winter zur Untersuchung noch an den Zweigen vorhandene oder abgefallene, auch trocken aufbewahrte Blätter nehmen,

die wir zum Austreiben der Luft zunächst kurze Zeit in Alkohol legen und dann in heißem Wasser aufweichen.

Ganz eigene Gebilde sind die Spreuschuppen (paleae) der Farne, welche die jungen Blätter und Stammteile einhüllen, oft aber auch an älteren Teilen noch zu beobachten sind. Man kann fast jede Farnspezies zur Untersuchung wählen; wo jedoch Asplenium bulbiferum zur Verfügung steht, nehme man dieses. Die Spreuschuppen haben da durchaus die Gestalt kleiner Blätter; man suche sie auf den jungen, noch eingerollten Teilen der in Entwicklung begriffenen Wedel. Als einfachste Präparationsmethode dürfte es sich auch hier empfehlen, junge Wedelteile mit Nadeln zu zerzupfen. Die Schuppe entspringt aus einer Epidermiszelle (vgl. Fig. 105). Nur die Seitenwände der Zellen sind verdickt, nicht die obere und die untere Wand; gewöhnlich bleibt eine Anzahl Zellen am Grunde der Schuppen ganz unverdickt; die Randzellen sind andererseits nur an ihren an die Nachbarzellen stoßenden, nicht an den den Rand bildenden Seitenwänden verdickt. Von der Verdickung bleiben endlich auch die letzten Zellen am Scheitel ausgeschlossen; interessant ist der ganz allgemein wiederkehrende Abschluß der Verdickung scheitelwärts in Gestalt einer ┳-förmigen Figur. Alle diese verdickten Teile sind an ausgewachsenen Schuppen rotbraun gefärbt; es springen von der Verdickung aus kurze Höcker in das Zellumen vor. Die noch lebende Schuppe führt zytoplasmatischen Inhalt und Zellkerne, außerdem am Scheitel und meist noch an einer (Fig. 105) oder an mehreren seitlichen Auszweigungen je eine kugelig angeschwollene, mit feinkörnigem, lichtbrechendem Inhalt erfüllte Endzelle, ein Drüsenköpfchen. Diese Zellen sind an älteren Schuppen abgestorben, verschrumpft und schließlich alle mit Luft erfüllt.

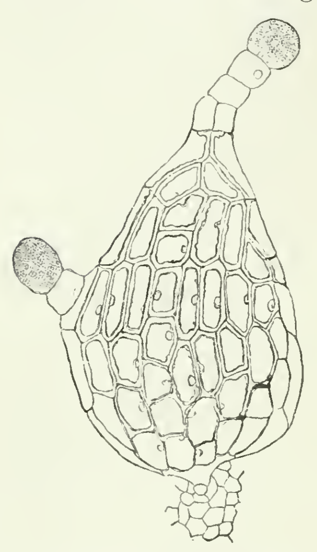
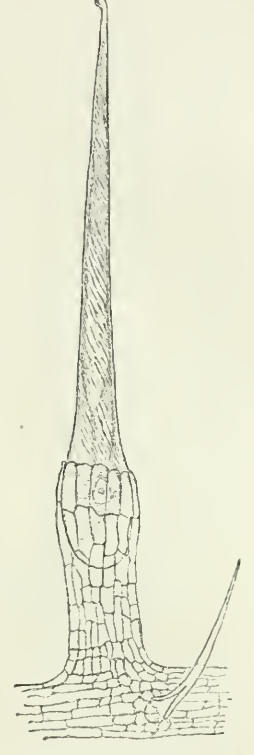


Fig. 105. Eine ausgewachsene, noch lebende Spreuschuppe von Asplenium bulbiferum. Vergr. 90.

Wir stellen jetzt einen Längsschnitt durch den Stengel einer Rose, vielleicht der Rosa semperflorens der Gärten her, und zwar an einer Stelle, der ein Stachel aufsitzt. Wir suchen den Stachel zunächst möglichst median zu halbieren und dann einen dünnen Längsschnitt aus ihm zu erhalten, was freilich nicht ganz leicht ist. Beim Schneiden dürfen wir es nicht versäumen, die Schnittfläche mit Wasser zu befeuchten. An einem gut gelungenen Schnitt kann man feststellen, daß die Epidermis des Stengels auch über den Stachel verläuft. Ihre Zellen werden dort stärker verdickt und strecken sich in die Länge. Auf die Epidermis folgen im Stachel enge, ziemlich stark verdickte und dann weitlumigere Zellen, die den ganzen mittleren Teil des Stachels ausfüllen. Alle diese Zellen sind feinporig. Die Epidermis des Stengels wird durch eine oft recht kräftige Lage ziemlich stark verdickter, gestreckter, mit schrägen Wänden aufeinanderstoßender, chlorophylloser Zellen von dem chlorophyllhaltigen, inneren Gewebe getrennt. Die chlorophyllosen Zellen sind es, die sich in das Innere

des Stachels fortsetzen. Von dem chlorophyllhaltigen Gewebe des Stengels ist das Stachelgewebe durch einen flachzelligen Gewebestreifen getrennt. Dieser Streifen geht durch Teilung aus der untersten Zellage des Stachels hervor; er folgt nur kurze Zeit dem chlorophyllhaltigen Gewebe des Stengels und wendet sich hierauf gegen die Epidermis. Es ist das eine Korkschicht, welche die Stachelbasis somit auch gegen das chlorophyllose Gewebe des Stengels seitlich abgrenzt. An der Außenfläche dieser Korkschicht geht an älteren Stengelteilen durch Vermittlung eines Trennungsgewebes die Ablösung des Stachels vor sich. Zuvor schon gelingt es, den Stachel längs der Innenfläche der Trennungsschicht, annähernd glatt vom Stengel abzulösen. — Wählt man einen Stachel am Blattstiel zur Untersuchung, so findet man ihn nicht anders als am Stengel gebaut, doch fehlt an dessen Grunde die Korkschicht. — Bei Durchmusterung des an den Stachel anstoßenden Rindengewebes der Rose dürfte die Anwesenheit von Kristallen in den Zellen auffallen. Es sind das auch in diesem Fall Kristalle von oxalsaurem Kalk; denn sie werden in Essigsäure nicht gelöst, ebensowenig in Kalilauge, lösen sich hingegen ohne Gasentwicklung in Salzsäure. Sie haben entweder die Gestalt monokliner Säulen oder Drusen. Die letzteren bestehen aus einer großen Anzahl von Kristallen, die einem ursprünglichen Kristall aufgesetzt sind. Die Drusen fallen durch ihre Größe und morgensternförmige Gestalt ganz besonders in die Augen.


Fig. 106. Brennhaar von Urtica dioica nebst einem Stück Epidermis; auf dieser eine kleine Borste. Vergr. 60.

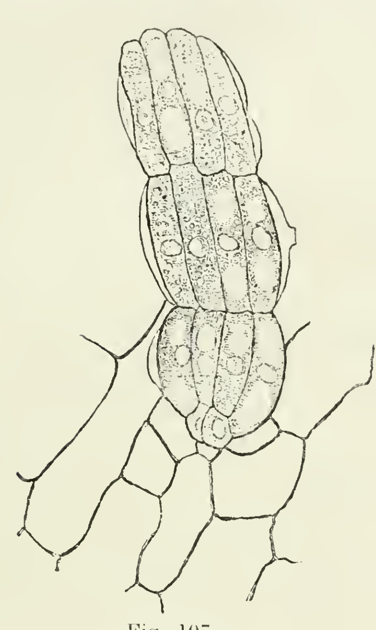
Nunmehr wollen wir auch Brennhaare untersuchen. Wir wenden uns dabei an die zweihäusige, große Nessel (Urtica dioica), über die man selbst im Winter verfügen kann, wenn man sie zeitig in einem Topf ins Gewächshaus brachte. Ebenfalls können wir die kleine Nessel (Urtica urens) verwenden, die auch im Winter im Freien anzutreffen ist. Um unversehrte Brennhaare der zweihäusigen Nessel zur Beobachtung zu erlangen, müssen wir sie den jüngeren Teilen der Pflanze entnehmen. Am besten dürfte es sein, sich an die Rippen junger, lebenskräftiger Blätter zu halten. Man löst das Haar, das mit dem bloßen Auge sichtbar ist, unterhalb seiner Einfügungsstelle mit dem Rasiermesser ab und untersucht es in Wasser. War das Haar bereits abgestorben, so findet man Luft in seinem Innern; es ist dann auch seine Spitze nicht mehr intakt. Ein unversehrtes Haar zeigt sich so, wie in Fig. 106. Das Haar ist einzellig, scharf zugespitzt, an der Spitze zu einem kleinen, schief aufsitzenden Köpfchen angeschwollen. Am Grund erweitert es sich kolbenförmig zu einem Bulbus, der in einen von dem Gewebe des Blattes gebildeten Becher

eingesenkt erscheint. Wie die Entwicklungsgeschichte lehrt, geht dieses Haar aus nur einer einzigen Epidermiszelle hervor, die ursprünglich in gleicher Höhe mit ihren Nachbarinnen liegt. Hierauf erst wird der stark anschwellende Fuß des Haares auf einer Gewebesäule emporgehoben, die von Epidermis überzogen ist und in ihrem Innern aus hypodermalem Gewebe besteht. Im Haar selbst läßt sich Protoplasmaströmung beobachten. Der Zellkern befindet sich meist innerhalb des Bulbus an Plasmafäden aufgehängt. Die Kutikula zeigt schräge Leisten, die hier bei allen Haaren in derselben Richtung aufsteigen. Wie man sich durch Anwendung konz. Schwefelsäure und nachherigen Zusatz von 20-proz. Chromsäure überzeugen kann, ist die Wandung des Köpfchens und der daran grenzenden Haarteile der ganzen Dicke nach verkieselt. Weiter nach abwärts nimmt die Dicke der verkieselten Wandteile rasch ab und bleibt schließlich auf die Kutikula beschränkt. Die nicht verkieselten Wandteile sind andererseits, wie ihr Aufschäumen in Salzsäure lehrt, mit kohlensaurem Kalk imprägniert, wodurch die Steifheit des ganzen Haares erhöht wird. Man findet, wie schon erwähnt, öfters Haare mit abgebrochenem Köpfchen. Dieses leichte Abbrechen des Köpfchens wird dadurch veranlaßt, daß die Haarwandung dicht unter diesem Köpfchen eine verdünnte Stelle besitzt. Die schiefe Insertion des Köpfchens bewirkt es andererseits, daß die Bruchfläche schräg gerichtet ist und so eine scharfe Spitze am Haar schafft. Die geöffnete Brennhaarspitze erinnert so an die Mündung einer Einstichkanüle. Sie ist es, die bei unvorsichtiger Berührung der Haare in die Haut eindringt, worauf der giftige Zellsaft in die Wunde fließt und dort eine schwache Entzündung verursacht. — Auf demselben Epidermisstückchen sehen wir neben den Brennhaaren auch kleine einzellige Borsten (vgl. Fig. 106 rechts); sie sind durch starke Verdickung ihrer Wand und feine Zuspitzung ausgezeichnet. Ebensolche Borsten finden wir am Blattrand, wie man leicht an einem in Wasser unter dem Deckglas liegenden Blattstück feststellen kann. Die Borsten können in älteren Blättern fast bis zum Schwinden ihres Lumens verdickt sein; ihre Oberfläche ist mit kleinen Höckern bedeckt.

Drüsenhaaren sind wir bereits am Blumenblattrand von Verbascum nigrum begegnet; wir wollen sie eingehender bei Primula sinensis studieren. Zu diesem Zweck stellen wir Querschnitte durch einen Blattstiel dieser Pflanze her. Der Haarkörper ist von der epidermoidalen Fußzelle durch eine oberhalb der Epidermis liegende Querwand abgegrenzt und bildet einen Zellfaden, der für gewöhnlich aus zwei längeren und zugleich weiteren Zellen und meist nur einer schmäleren und auch kürzeren Zelle besteht. Die letztere trägt ein kugelrundes Köpfchen, dem eine Kappe aus stark lichtbrechender, harziger, gelblicher Substanz aufsitzt. Die Ausscheidung findet zwischen Kutikula und der übrigen Zellmembran statt. Die Kutikula wird abgehoben, gedehnt und schließlich zersprengt, worauf sich das Sekret über den oberen Teil des Haares ergießt. Zusatz von Alkohol entfernt das Sekret, worauf die abgehobene, sich in Falten legende Kutikula sehr gut zu sehen ist. — Die Zellen des Haares zeigen ein schönes Netz aus Zytoplasma mit suspendiertem Zellkern, in dem ein großes Kernkörperchen liegt. Dem Wandplasma sind kleine Chloro-

phyllkörner eingebettet. Bei der Untersuchung dieser Haare gilt es, einige Vorsicht zu üben, da ihr Sekret giftig ist und Haut- und Augenentzündungen veranlassen kann[1]). Die individuelle Empfindlichkeit gegen dieses Gift ist übrigens sehr verschieden.

Statt Primula sinensis kann Pelargonium zonale oder eine andere Pelargonium-Art untersucht werden. Die Drüsenhaare dieser Pelargonien sind ebenso wie jene von Primula sinensis gebaut und an Querschnitten durch nicht zu alte Blattstiele bequem zu unter-



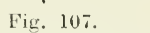


Fig. 107.

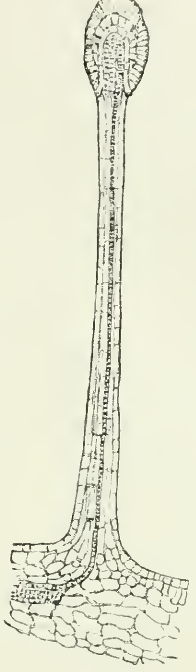


Fig. 108.

Fig. 107. Drüsenzotte einer Ochrea von Rumex Patientia. Vergr. 240.
Fig. 108. Drüsenzotte von Drosera rotundifolia im optischen Längsschnitt. Vergr 60.

suchen. Außerdem tragen solche Blattstiele noch stumpfe, relativ kurze und dicke, ferner spitze, lange und schmale Haare, sowie alle Übergänge zwischen den genannten Extremen. Diese Haare sind einzellig oder durch zarte Querwände einmal, seltener mehrmals geteilt.

Sehr schön sind „Drüsenzotten“ (Kolleteren) auf den häutigen Verlängerungen (Ochreae) der Blattscheiden von Rumex Patientia, dem Garten-Ampfer, zu beobachten. Die von den Zotten gelieferten Sekretmassen sind hier so bedeutend, daß man bei feuchtem Wetter die Stengelspitzen und die jungen Blätter ganz von Schleim bedeckt findet. Man kann die häutigen Ochreae ohne weiteres in Beobachtung nehmen, wobei sie mit der Innenseite nach oben gekehrt werden müssen. Die Zotten fallen bei Durchmusterung des Präparats als Blättchen auf (Fig. 107). Diese Blättchen entspringen mit kurzem, einzelligem Fuß einer kleinen Oberhautzelle. Auf die eine Zelle folgen zwei, auf diese meist vier Zellen,

[1]) A. Nestler, Hautreizende Primeln, Berlin 1904; ferner E. Rost, Arbeiten a. d. Kais. Gesundheitsamte, Bd. XLVII, 1914, S. 133 ff. Über das Sekret vgl. Reg. IV.

die, in der Richtung der Längsachse des Blättchens gestreckt, sich in mehreren Etagen wiederholen. Auf den nach außen gekehrten Wänden der Zellen der Zotten sieht man oft blasenförmige Auftreibungen, die bald einen Teil, bald die ganze Wand einer Zelle einnehmen. Auch hier wird somit der Schleim zwischen Kutikula und der übrigen Zellhaut gebildet und hebt die Kutikula ab. Die Blase öffnet sich schließlich und entläßt den Schleim, der im Wasser zu einer vollkommen klaren Masse aufquillt.

Besonders interessant in ihrem Bau sind die auch als Digestionsdrüsen oder Tentakeln bezeichneten Drüsenzotten von Drosera rotundifolia[1]), dem Sonnentau. Sie entspringen als fadenförmige Gebilde dem Blattrand und der ganzen oberen Fläche des Blattes. Die dem Blattrand entspringenden Tentakeln sind länger als die der Blattmitte, dabei dorsiventral gebaut, während die der letzteren radiäre Struktur aufweisen. Die Fäden (Fig. 108) verjüngen sich in ihrem Verlauf ein wenig und schwellen an ihrem Ende mehr oder weniger eiförmig an. Wir nehmen zur Untersuchung zunächst eine auf der Blattmitte stehende Drüsenzotte und sehen da, daß sie aus zarten in der Längsrichtung gestreckten Zellen besteht und im Innern von einem Strang schraubenförmig verdickter Röhren, Schraubentracheïden, durchzogen wird. Das kolbenförmig angeschwollene, aus einer Gruppe kürzerer und weiterer Tracheïden bestehende Ende des Stranges wird umgeben von einer einfachen, glockenförmigen Zellschicht lückenlos aneinanderschließender, in tangentialer Richtung abgeflachter, langgestreckter Parenchymzellen, deren unterste bis zur Außenfläche des Tentakelköpfchens reichen. Die Radial-Wände dieser Zellen sind kutinisiert, ebenso, bis auf jene der oberen Zellen der Glocke, die Innenwände[2]). Diese Mittelschicht (Endodermis)[3]) zeigt sich umhüllt von einem meist zweischichtigen Drüsengewebe, dessen äußere Lage am Scheitel des Köpfchens palisadenförmig gestreckte Zellen aufweist. Die Außenwände der oberflächlichen Schicht, die keine Kutikula besitzt[4]), zeigen besonders deutlich an ihren unteren seitlichen Zellen nach innen hervortretende, leistenförmige Membranverdickungen, die nach dem Scheitel des Drüsenköpfchens hin niedriger und zuweilen fast unkenntlich werden. In die durch die Membranleisten gebildeten Tüpfelräume ragt der Plasmakörper mit papillenartigen Fortsätzen hinein[5]), was man leicht nach Behandlung mit Eau de Javelle und verd. Schwefelsäure erkennen kann, und zwar, wenn man alsdann die Drüsenzotten durch Druck auf das Deckglas zerquetscht. Gleichzeitige Färbung mit Pikrin-Anilinblau (s. Reg. IV) erhöht noch die Sichtbarkeit der Fortsätze. Bei Untersuchung der randständigen Tentakeln, die sich durch ihren erheblich längeren, bis weit nach oben mit Drüsenhaaren besetzten Stiel auszeichnen, werden wir den dorsiventralen Bau des Köpfchens feststellen können, der sich darauf zurückführen läßt, daß die auch hier in zwei Schichten angeordneten Sekretionszellen nur einseitig entwickelt sind. So bilden sie ein ovales, im Sinne der Blattober-

[1]) Vgl. hierzu besonders G. Haberlandt, Sinnesorgane im Pflanzenreich, 2. Aufl., 1906, S. 119. Dort die umfangreiche Literatur. Ferner Ders., Physiol. Pflanzenanatomie, 5. Aufl., 1918, S. 468.

[2]) L. Kny, Text zu der Botan. Wandtafel CI, 1906, S. 441.

[3]) Nach O. Rosenberg, Physiol.-Cytol. Untersuchungen an Drosera, Upsala 1899, S. 44.

[4]) K. Goebel, Pflanzenbiol. Schilderungen II, 1893, S. 198.

[5]) G. Haberlandt, l. c. 1906 und 1918

seite orientiertes Polster. Nach innen zu folgt eine der Mittelschicht der kürzeren Tentakeln entsprechende, einfache Schicht langgestreckter, flacher Parenchymzellen mit kutinisierten Membranen und auf diese die zu einer bikonvexen Gruppe vereinigten Tracheïden, in welche die obersten Tracheïden des Tentakelstiels hineinragen. Die Tracheïdengruppe des Köpfchens wird an der Unterseite dieser dorsiventralen Tentakel von einer Parenchymschicht und diese wieder von der Epidermis umfaßt, die beide wie eine Umrahmung über das Sekretionspolster hervorragen [1]).

Die Ansatzstelle des Drüsenstiels, richtig getroffen, zeigt, daß nicht allein die Epidermis, sondern auch das innere Gewebe des Blattes sich in die Drüsenzotten fortsetzt. — Diese Drüsenzotten sondern durch ihre Kutikula nach außen ein schleimiges Sekret ab, das, einem Tautropfen gleich, am Köpfchen haftet. An diesem Schleimtropfen bleiben kleine Insekten kleben und werden durch eine entsprechende Krümmung der Drüsenzotten nach der Blattmitte befördert. Jetzt neigen sich auch die anderen Drüsenzotten über dem Insekt zusammen und berühren es mit ihren Köpfchen. Der Reiz wird kreisförmig fortgeleitet, so daß schließlich auch die am Rand des Blattes stehenden Drüsenzotten sich einbiegen, und hierauf die ganze Blattfläche sich wölbt, um das gefangene Tier zu umschließen. Die gereizten Drüsenzotten sondern reichlich Schleim ab, von dem das gefangene Tier umhüllt wird, und in dem es bald erstickt. In diesem Sekret stellt sich eine freie Säure, außerdem ein dem Pepsin ähnliches Enzym ein, und diese sind befähigt, die im Körper des Insektes befindlichen Eiweißstoffe langsam zu verdauen. Die gelösten Substanzen werden vornehmlich durch Vermittlung der Drüsenköpfchen und kleiner mehrzelliger Papillen, die sich an den Stielen der Drüsenzotten und der ganzen Oberfläche der Blattspreite, auch des Blattstiels, befinden, in die Pflanze aufgenommen. Im jugendlichen Zustand vermögen alle diese Haare die von den Tentakelköpfchen abgesonderte Flüssigkeit zu verarbeiten. Späterhin verlieren die meisten diese Fähigkeit, und nur die Haare an der Oberseite der Blattspreite behalten sie [2]).

Sind einem Drosera-Blatt Stücke von Fleisch, Eiweiß oder bestimmte andere Stoffe [3]) aufgelegt worden, so stellen sich alsbald Veränderungen des Vakuoleninhalts in den Zellen der Drüsenzotten ein, die als „Aggregation“ bezeichnet worden sind [4]). Dieselben Erscheinungen kann man auch an abgeschnittenen Drüsen beobachten, die man in einer ca. 0,1-proz. Lösung von Ammoniumkarbonat untersucht. Besonders empfiehlt es sich, die Drüsenzotten den in der Sonne gewachsenen Pflanzen zu entnehmen, weil ihr Zellsaft dunkelrot gefärbt ist, was die Beobachtung erleichtert. Bei der Aggregation handelt es sich anscheinend um einen Abschnürungsvorgang des aus einer stark gequollenen, eiweißhaltigen Masse bestehenden Vakuoleninhalts der Drüsenzellen [5]). Während dieses Vorganges ist eine wesentliche Beschleunigung der sonst nur schwer sichtbaren Zirkulations-

[1]) A. Fenner, Flora, Bd. XCIII, 1904, S. 401, 404; L. Kny, l. c. 1906, S. 442.

[2]) A. Fenner, l. c. 1904, S. 335.

[3]) Z. B. Pepton, Asparagin, Pepsin, Phosphate, Aethylalkohol. Vgl. dazu A. Åkerman, Bot. Notiser, 1917, S. 145 ff.; ferner E. Janson, Beih. z. bot. Zentralbl., 1. Abt., Bd. XXXVII, 1920, S. 154 ff.

[4]) Ch. Darwin, Insectivorous Plants, Ch. III; H. de Vries, Bot. Ztg., XLIV. Jahrg., 1886, S. 7. Vgl. auch Th. Bokorny, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XX, 1889, S. 435 ff., und E. Janson, l. c. 1920.

[5]) E. Janson, l. c. 1920, S. 164.

ströme im Protoplasma der Zellen nachzuweisen. Die Aggregation wird in Ammoniumkarbonat in wenigen Stunden vollzogen. Normalen, doch langsameren Verlauf erhält man durch Einlegen abgeschnittener Drüsenzotten in einen hängenden Wassertropfen. In diesem Fall ist die Aggregation nach etwa 24 Std. vollzogen, wohl unter dem Reiz des aus den angeschnittenen Zellen ausgetretenen Zellsaftes. An den unversehrten Drüsenzotten der Pflanze bildet sich, nach Aufhören des Reizes, die Aggregation zurück, und es wird der ursprüngliche Zustand wieder hergestellt. In den Zellkernen der gereizten Drüsenzotten ballt sich das Chromatin in länglichen Gebilden zusammen, die sich an der Kernwandung verteilen und an die zu Beginn einer Kernteilung sich sondernden Chromosomen erinnern[1]). Um diese Veränderungen der Kerne zu verfolgen, müssen die S. 59 ff. geschilderten Härtungen und Färbungen der Objekte vorgenommen werden.

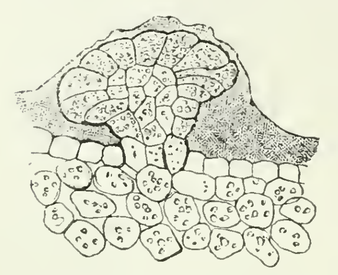


Fig. 109. Drüsenzotte an einer Deckschuppe der Winterknospe von Aesculus Hippocastanum, von Sekret umgeben. Vergr. 240.

Ein Querschnitt durch eine Winterknospe der R o ß k a s t a n i e (Aesculus Hippocastanum) zeigt uns den Deckschuppen aufsitzende, knopfförmige Drüsenzotten (Fig. 109). Die mittleren Deckschuppen der Knospe tragen Zotten auf beiden Seiten, an den äußeren findet man sie mehr auf der inneren, an den inneren findet man sie mehr auf der äußeren Fläche. Der Bau der Zotten ergibt sich aus der Figur; sie zeigen eine mittlere Zellreihe, die sich nach oben zu teilt, und von dieser strahlen die sezernierenden Zellen aus. Das Bild gibt die Drüse im Längsschnitt. Das sich bildende Sekret sprengt die Kutikula ab und ergießt sich zwischen die Deckschuppen, diese überziehend und verklebend. Das Sekret besteht aus einem Gemenge von Gummi und Harz. Im Wasser sieht man die im Harz verteilten Gummitröpfchen quellen, während andererseits bei Zusatz von Rosanilinviolett die Harzmasse sich schön blau färbt. Der Inhalt der Zotten wird hier auch rot.

Wir sind bereits an einem Objekt (Iris florentina) auf den feinkörnigen Wachsüberzug aufmerksam geworden, der die Außenfläche der Epidermis bedeckte (S. 195); wir wollen hier noch speziell auf diesen Punkt hin einige andere Pflanzen untersuchen.

Sehr geeignet dazu ist E c h e v e r i a g l o b o s a , die in Gärten so oft zu „Teppichbeeten" verwendet wird. Der Wachsüberzug gibt der Pflanze ein „bereiftes" oder „glaukes" Aussehen. Er läßt sich leicht vom Blatt herunterwischen. Oberflächenansichten der Blattepidermis zeigen uns zu einer netzförmigen Kruste verschmolzene Körner.

Wachsüberzug in leicht zu beobachtender Form gehäufter, kurzer Stäbchen sehen wir auf Flächenschnitten der Blattepidermis von E u c a l y p t u s g l o b u l u s.

Ähnliche zarte Stäbchen würden uns dünne Querschnitte an der Oberfläche erwachsener Stengelglieder vom Roggen (S e c a l e c e r e a l e) zeigen.

[1]) L. Huie, Quarterly Journ. of Micr. Sc., 1897, S. 1ff.; 1899, S. 203; O. Rosenberg, Physiol.-Cytol. Unters. über Drosera rotundifolia, Upsala 1899.

Das schönste Objekt ist das in Gewächshäusern häufig kultivierte Zuckerrohr (Saccharum officinarum). Dort tritt uns der Wachsüberzug in Gestalt langer, an den Enden oft lockig gekrümmter Stäbchen entgegen. Man stelle Oberflächenschnitte von den Knoten des Stengels, die durch ihr glaukes Aussehen auffallen, her. Da viel Luft zwischen den Stäbchen haftet, so tauche man den Schnitt für kurze Zeit in kalten Alkohol ein. Jetzt läßt sich der Wachsüberzug leicht untersuchen. Schwer hingegen ist es, gute Querschnitte mit noch ansitzenden Stäbchen zu bekommen. Die Fig. 110 führt einen solchen

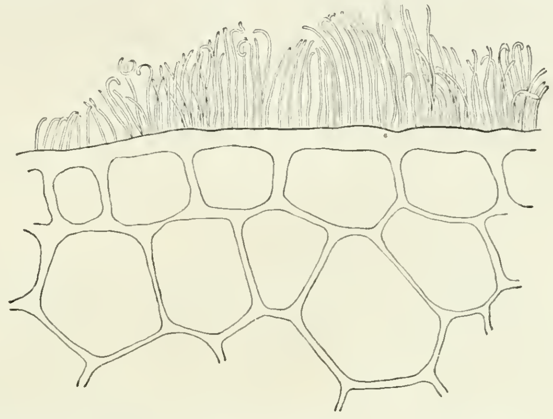


Fig. 110. Querschnitt durch einen Stengelknoten von Saccharum officinarum, mit stäbchenförmigem Wachsüberzug. Vergr. 540.

vor. Die Stäbchen stehen dichtgedrängt nebeneinader, vielfach lockige Krümmungen aufweisend. — Wird ein Flächenschnitt in die Nähe einer Flamme gebracht, so zeigen sich unter dem Mikroskop die Stäbchen geschmolzen. In heißem Alkohol verschwindet der Überzug.

Die vegetabilischen Wachsarten stellen fettartige Körper dar, die neben einer Anzahl Phytosterinen hochwertige aliphatische Säuren und Alkohole enthalten[1]).

Der auffällige Blauglanz bestimmter Blätter — besonders von Schattenpflanzen — und Früchte soll auf diffuser Reflektion in der Außenwandung der Epidermiszellen beruhen. Es handelt sich um die Wirkung eines farblosen, trüben Mediums. Die Trübung in den aus Zellulose bestehenden Verdickungsschichten der Epidermiszellen kann durch Einlagerung von Kutinkörnchen veranlaßt sein, wie z. B. bei den schattig und feucht stehenden Exemplaren der in Gewächshäusern vielfach kultivierten Selaginella laevigata oder S. caesia. Eine ähnliche Wirkung rufen streifen- oder riefenförmige Verdickungen hervor, welche die Epidermiszellwände durchziehen)[2], und u. a. an Blättern von Glechoma hederacea, dem Gundermann, und Sambucus nigra, dem schwarzen Holunder, besonders schön zu sehen sind, falls sie an schattigen Stellen wachsen.

[1]) Vgl. H. Euler, Grundlagen u. Ergebnisse der Pflanzenchemie, I. T., 1908, S. 34, und Fr. Czapek, Biochemie d. Pfl., 2. Aufl., I. Bd., 1913, S. 215; ferner 3. Aufl., 1922, Ebenda.

[2]) G. Gentner, Flora, Bd. IC, 1909, S. 337.

VIII. Abschnitt.

Geschlossene, kollaterale Leitbündel. Färbung, Einbettung und Verschluss der Präparate. Kristalle. Dickenwachstum der Monokotylen. Amphivasale Leitbündel. Raphiden.

Untersuchungsmaterial.

Stengelstücke von Zea Mays oder von Avena sativa oder einer anderen Graminee, und zwar Alkoholmaterial. Stammstücke von Dracaena (Cordyline) rubra, frisch oder Alkoholmaterial.

Blätter von Iris florentina, Alkoholmaterial.

Wichtigste Reagentien. Farbstoffe. Einschluß- und Verschlußmedien.

Chlorzinkjodlösung. — Korallin-Soda. — Safranin. — Glyzerin-Gelatine bzw. Glyzerin, Kanadabalsam und Gold-Size.

Ein sehr günstiges Objekt, um den Bau der kollateralen, geschlossenen Leitbündel der Monokotylen kennenzulernen, ist der Stengel von Zea Mays[1]). Wir wollen Material untersuchen, das längere Zeit in Alkohol gelegen hat, um uns auch über den Inhalt der Zellen leichter unterrichten zu können. Da die Knoten weniger günstige Bedingungen für die Orientierung bieten, führen wir den Querschnitt durch ein Internodium. Wir erleichtern uns das Verständnis des Bildes dadurch sehr, daß wir den Schnitt gleich in einen Tropfen Chlorzinkjodlösung legen. Es tritt alsbald die Färbung des Schnittes ein, und die einzelnen Leitbündel treten auch für das bloße Auge scharf hervor. Legen wir den Objektträger auf eine weiße Unterlage, so können wir uns in einfachster Weise über die „zerstreute" Anordnung der Leitbündel, wie sie den monokotylen Pflanzen eigen ist, unterrichten. Es fällt auf, daß die Leitbündel nach der Peripherie des Stengels dichter gedrängt stehen. Jeder Leitbündelquerschnitt zeichnet sich als ovaler Fleck. Das Gewebe, in dem diese Leitbündel eingebettet sind, ist das Grundgewebe. Eine Sonderung des Grundgewebes in Mark und Rinde ist bei zerstreuter Stellung der Bündel nicht vorhanden, wohl aber muß der ganze innere Teil des Grundgewebes, der die Leitbündel führt, als Zentralzylinder von der ihn umgebenden primären Rinde unterschieden werden. — Wir suchen uns bei schwacher Vergrößerung eine Stelle des Schnittes zu näherem Studium aus. Wir wählen ein Leitbündel, das nicht zu nahe der Peripherie liegt, weil in deren Nähe der Bau der Leitbündel sich vereinfacht. Für alle Fälle haben wir uns aber genau darüber zu orientieren, nach welcher Richtung die Oberfläche des Stengels liegt, damit

[1]) Vgl. E. Strasburger, Über den Bau und die Verrichtungen der Leitungsbahnen in den Pflanzen, 1891, S. 329 ff.

wir wissen, welches die innere und welches die äußere Seite des Leitbündels ist. Das Leitbündel, das wir auswählen, möge etwa wie Fig. 111 aussehen. Es fällt uns zunächst die Scheide auf, die das Leitbündel umgibt und durch Chlorzinkjodlösung rotbraune Färbung angenommen hat (*vg*). Sie besteht aus stark verdickten und verholzten Sklerenchymfasern und hat sich deshalb in der ebenbezeichneten Weise gefärbt. Sie ist stärker an dem Innen- und Außenrand des

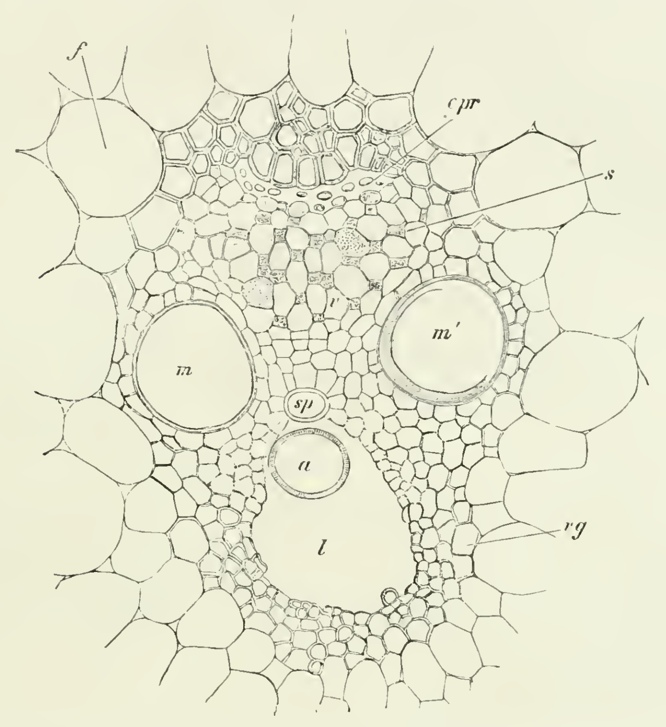


Fig. 111. Querschnitt durch ein Leitbündel aus den inneren Teilen eines Internodiums des Stengels von Zea Mays. *a* Glied einer Ringgefäßtracheïde, *sp* Schraubengefäßtracheïde, *m* und *m'* unbehöft getüpfelte Gefäße, *v* Siebröhren, *s* Geleitzellen, *cpr* zerquetschte Kribralprimanen, *l* Interzellulargang, *vg* Scheide, *f* Grundgewebe. Vergr. 180.

Leitbündels entwickelt, schwächer an dessen Flanken. Weiter sehen wir, mit der Beobachtung von innen nach außen im Bündel fortschreitend, einen Interzellulargang (*l*), der von engen, nur schwach verdickten, trotzdem durch die Chlorzinkjodlösung gelb gefärbten Zellen umgeben ist. In diesen Interzellulargang ragt ein Ring (*a*) hinein, der zu einer durch Streckung zerrissenen Gefäßtracheïde gehört. Auch der Interzellulargang ist durch Zerreißen von Zellen entstanden. Eine solche Entstehung nennen wir l y s i g e n, während dort, wo ein Interzellulargang durch Auseinanderweichen der Gewebeelemente entsteht, sein Ursprung ein s c h i z o g e n e r ist. — Die durch Streckung zerrissene Gefäßtracheïde, sowie einige andere, deren Verdickungsschichten wir eventuell noch in den Interzellulargang hineinragen sehen, stellen die in diesem Teil des Leitbündels

zuerst ausgebildeten Elemente vor, die zu einer Zeit entstanden sind, wo der betreffende Pflanzenteil noch in starkem Längenwachstum begriffen war. — An den Interzellulargang schließen nach außen eine oder mehrere andere Gefäßtracheïden an. Sie sind an ihrem Lumen, das weiter als jenes der benachbarten Zellen ist, kenntlich. In dem von uns abgebildeten Leitbündel war nur e i n e solche Gefäßtracheïde (*sp*), und zwar eine relativ englumige, vorhanden. Diese in Ein- oder Mehrzahl vertretenen Gefäßtracheïden sind, was wir erst am Längsschnitt werden feststellen können, schraubenförmig verdickt. Rechts und links in halber Ausdehnung des Bündels fallen uns die Querschnitte zweier weiter Gefäße (*m*, *m'*) mit getüpfelten, selten netz- oder schraubenförmig verdickten Wänden auf. Oft sieht man in das Lumen dieser großen Gefäße einen Ring oder den Teil eines solchen (*m'*) vorspringen. Es ist das der Rest einer Scheidewand, die diaphragmaartig durchbrochen ist. Eben diese Durchbrechung der Scheidewände ist es, die uns veranlaßt, solche Elemente als Gefäße oder Tracheen zu bezeichnen, im Gegensatz zu den gefäßähnlichen oder tracheïdalen Elementen, deren Scheidewände nicht durchbrochen sind. Wo die Tracheïden in ihrem Aussehen den Gefäßen gleichen, lassen sie sich, so wie es hier bereits geschehen ist, als Gefäßtracheïden den Fasertracheïden gegenüberstellen, die Fasern gleichen. Tracheen und Tracheïden sind ohne lebenden Inhalt, nur tote Röhren, die der Wasserleitung dienen. — Die beiden großen Gefäße im Leitbündel von Zea Mays werden entweder allseitig von flachen Parenchymzellen umgeben, oder sie grenzen an der einen Seite direkt an die Elemente der Scheide. Nach den Zellen der Scheide führen von den Gefäßen aus überhaupt keine oder doch nur vereinzelte, kleine Tüpfel, während große Tüpfel sie mit den Parenchymzellen verbinden. Das Gewebe zwischen den beiden Gefäßen besteht aus Parenchym, in dem eine größere oder kleinere Anzahl von Tracheïden verteilt ist. Alle die genannten Elemente hat die Chlorzinkjodlösung gelbbraun gefärbt.

Den bis jetzt betrachteten Teil des Leitbündels bezeichnen wir als Gefäß- oder Vasalteil, er wird auch Holzteil oder Xylem, auch Hadrom genannt. Das Parenchym dieses Gefäßteils wollen wir als Vasalparenchym von anderem Parenchym unterscheiden. Die unmittelbar die Gefäße umgebenden Vasalparenchymzellen, die in ihrer Gestalt und dem Bau ihrer Wände eine Beziehung zu den Gefäßen verraten, können noch im besonderen als Gefäßbelegzellen gelten. Die mehr oder weniger zerstörten Gefäßtracheïden, die wir in der Mediane des Leitbündels in der Nähe seines Innenrandes antrafen, stellen die ersten Elemente dar, die im Vasalteil des Leitbündels angelegt wurden und während der Streckung des noch im Wachstum befindlichen Pflanzenteils die Wasserleitung besorgten. Diese Elemente bezeichnen wir als Erstlinge des Gefäßteils oder Vasalprimanen. Man nennt sie auch Protoxylem-Elemente.

An der Außenseite des Gefäßteils folgen auf die Vasalparenchymzellen in regelmäßiger Abwechslung die weitlumigeren Siebröhren (*v*) und ihre englumigeren Geleitzellen (*s*). Die Siebröhren dienen vornehmlich der Leitung organischer Stoffe. Dieser Gewebestrang wird an den Seiten von einer Schicht dünnwandiger Zellen begleitet; nach

vorn folgt ihm ein Querstreifen aus stark verquollenen, außer Funktion gesetzten Siebröhren und Geleitzellen (*cpr*). Letztere haben in der Chlorzinkjodlösung eine bräunliche, die anderen Elemente eine violette Färbung angenommen. Die Geleitzellen in dem tätigen Teil zeichnen sich außerdem durch reichlichen, gelbbraun gefärbten, protoplasmatischen Inhalt aus. Stellenweise hat der Querschnitt die Querwand einer Siebröhre gestreift, die sich als fein punktierte Siebplatte zeigt.

Dieser von den Siebröhren und Geleitzellen gebildete Teil des Leitbündels ist als Siebteil oder Kribralteil dem Gefäßteil[1]) gegenüberzustellen. Er wird auch Bast oder Phloëm, auch Leptom genannt. Aus Vasal- und Kribralteil läßt sich die Bezeichnung Kribrovasalbündel für das ganze Leitbündel bilden, auch Fibrovasalbündel wird gebraucht, außerdem auch, in Beziehung zu Hadrom und Leptom, die Bezeichnung Mestom[2]). — Die in der Peripherie der Siebteile gelegenen, verquollenen Elemente entsprechen der Zeit nach, in der sie angelegt werden und tätig sind, den Vasalprimanen und müssen folgerichtig Erstlinge des Siebteils oder Kribralprimanen heißen. Sie werden entsprechend Protophloëm-Elemente genannt.

Solche Leitbündel, wie die vorliegenden, in denen der Siebteil einseitig an den Gefäßteil anschließt, werden als kollaterale bezeichnet. Da kein teilungsfähiges Gewebe zwischen dem Gefäßteil und dem Siebteil bei der Anlage des Leitbündels zurückbleibt, so heißen solche Leitbündel zugleich „geschlossene“.

Die dünnwandige, unverholzte Zellschicht, welche die Siebteile seitlich begleitet, gehört bereits der Leitbündelscheide an; auch die Kribralprimanen grenzen an Scheidenelemente, doch an verdickte. Diese letzteren sind Sklerenchymfasern, und zwar hier besonders weite. Die sklerenchymatischen Elemente, aus denen die Leitbündelscheide besteht, gehen durch einige vermittelnde Glieder in das großzellige, parenchymatische Grundgewebe (*f*) des Zentralzylinders über. Auch die Wände der parenchymatischen Zellen des Grundgewebes werden im fertigen Stengel durch die Chlorzinkjodlösung gelb gefärbt und zeigen nur hin und wieder einen Anflug von Violett.

Nähern wir uns jetzt der Peripherie des Stengels, so bemerken wir, daß die Leitbündel dort viel enger zusammenstehen, ihr Querschnitt kleiner wird, ihr Interzellulargang schwindet, und eine mediane Reihe von Gefäßtracheïden an dessen Stelle tritt. In den äußersten, kleinsten Leitbündeln fehlen sowohl die Vasal- wie die Kribralprimanen, was damit zusammenhängt, daß diese Leitbündel erst nach vollendeter Streckung des Internodiums ausgebildet wurden. Die beiden seitlichen Gefäße nehmen an Größe ab; sie werden durch andere, zwischen ihnen befindliche verbunden. Der Siebteil erfährt eine besonders starke Reduktion. Die Leitbündelscheide gewinnt umgekehrt an Mächtigkeit, doch nur an der Innenseite der Leitbündel. In dem Maße, als die Leitbündelscheide zunimmt, zeichnen sich in ihr seitlich, entsprechend der Grenze von Gefäßteil und Siebteil, immer deutlicher die sogenannten Durchlaßstellen oder -streifen. Dort bleibt

[1]) Die Bezeichnungen Gefäßteil und Siebteil rühren von A. DE BARY her.

[2]) Die Bezeichnungen Xylem und Phloëm rühren von C. NÄGELI her, Hadrom, Leptom und Mestom von G. HABERLANDT und S. SCHWENDENER.

die Leitbündelscheide schwach entwickelt, ihre Elemente unverdickt. Die Durchlaßstellen vermitteln den Stoffaustausch zwischen dem Innern des Leitbündels und dem umgebenden Grundgewebe. An den zu äußerst gelegenen Leitbündeln, welche die stärkste Reduktion erfahren haben, zeigt sich der Siebteil in den Gefäßteil eingesenkt; die beiden Durchlaßstellen sind an der Außenseite des Leitbündels zusammengetreten und bilden einen gemeinsamen Durchlaßstreifen, während die sklerenchymatischen Elemente der Scheide dort fehlen.

Außerhalb des Zentralzylinders liegt die primäre Rinde. An die Epidermis des Stengels schließt dort ein mehr oder weniger mächtiger Gewebering an, dessen Elemente ebenso wie jene der Leitbündelscheiden aussehen und sich auch mit Chlorzinkjod entsprechend färben. Solche distinkte, an die Epidermis grenzende Gewebeschichten werden als Hypoderma bezeichnet. Dieses Hypoderma ist nur an den Stellen unterbrochen, wo die Spaltöffnungen liegen. Das Hypoderma sowohl als auch die Scheiden der Leitbündel haben für den Schutz der dünnwandigen Gewebe und für die Festigkeit des ganzen Pflanzenteils zu sorgen und werden als Elemente des mechanischen Systems, als Stereïden, die Gewebe, die sie bilden, als mechanische Gewebesysteme, Stereome, zusammengefaßt. Da der Stengel biegungsfest gebaut sein soll, so müssen, den mechanischen Anforderungen gemäß, die Stereome möglichst an der Peripherie liegen. Die gedrängten, peripherischen, an der Gefäßteil- wie an der Siebteilseite mit starken Sklerenchymbelegen versehenen Leitbündel stellen hier ein System zusammengesetzter „Träger“ dar. Die Sklerenchymbelege sind die Gurtungen, die Leitbündel selbst die Füllungen dieser Träger. Der hypodermale Hohlzylinder aus Sklerenchym verstärkt die Wirkung, wenn er sich auch in diesem Fall nicht eben sehr kräftig entwickelt zeigt. Dieser Hohlzylinder ist mechanisch als eine Verschmelzung zahlreicher, im Kreis gestellter Gurtungen aufzufassen.

Jetzt gilt es, radiale Längsschnitte durch den Stengel auszuführen. Man begnüge sich nicht mit einem einzigen solchen Schnitt, da sonst die Aussichten zu gering sind, daß gleich ein richtiges Bild sich einfinde. Zunächst gilt es, ein median getroffenes Leitbündel aufzusuchen. Die Merkmale eines solchen Schnittes bestehen darin, daß er gleichzeitig den Interzellulargang und den Siebteil zeigt (Fig. 112). Kamen dem betreffenden Leitbündel mediane Gefäßtracheïden zu, so müssen auch diese in einem solchen Schnitt sichtbar sein. Auch an dem Längsschnitt läßt sich leicht, falls er in Chlorzinkjodlösung liegt, eine violette Färbung des Siebteils feststellen, und einen violetten Ton weisen auch die dünnwandigen, den Interzellulargang umgrenzenden Zellen auf. Die übrigen Elemente sind entsprechend dem, was wir am Querschnitt gesehen, gelb bis gelbbraun gefärbt. Wir ziehen es übrigens vor, hier für das eingehendere Studium einen Schnitt auszuwählen, den wir zuvor mit Korallin-Soda gefärbt haben. — Vor allem hat man sich darüber zu orientieren, welche Seite des Leitbündels nach dem Stengelinnern und welche nach der Stengeloberfläche liegt. Wie bei der Untersuchung des Querschnittes schreiten wir mit unserer Beobachtung vom innern Rand des Leitbündels gegen den äußern fort. Da finden wir, daß an die weiten, im Grundriß annähernd quadratischen Zellen des Grundgewebes engere Grund-

gewebezellen und an diese dann die engen Zellen der Leitbündelscheide (*vg*) grenzen. Diese letzteren Elemente, mit Korallin stark gefärbt, zeigen eine bedeutende Streckung, stoßen mit geneigten Wänden aufeinander und sind mit kleinen, spaltenförmigen, schräg aufsteigenden Tüpfeln versehen. Wegen dieser ihrer Tüpfelung haben wir sie zuvor schon als Sklerenchymfasern bezeichnet, wenn sie auch jene typische Form der Sklerenchymfasern, die durch scharfe Zu-

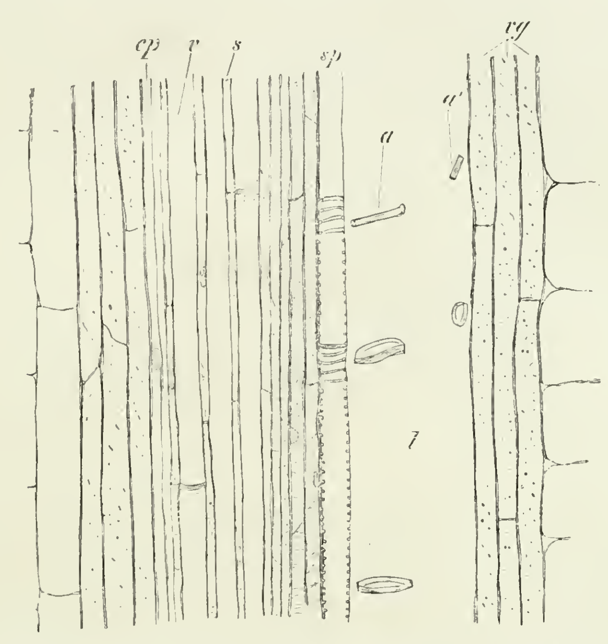


Fig. 112. Längsschnitt durch ein Leitbündel des Stengels von Zea Mays. *a* und *a'* Ringe einer Gefäßtracheïde; *sp* Schraubengefäßtracheïde; *v* Siebröhre; *s* Geleitzellen; *cp* Kribralprimanen; *l* Interzellulargang; *vg* Scheide. Vergr. 180.

spitzung der Enden ausgezeichnet ist, nicht besitzen. In ihrem Innern führen diese Elemente einen sehr reduzierten zytoplasmatischen Wandbeleg und je einen Zellkern. Auf die Zellen der Scheide folgt der Interzellulargang; wir können feststellen, daß er ohne Unterbrechung im Bündel verläuft. Er ist umgeben von dünnwandigen Vasalparenchymzellen, die weit kürzer als die Elemente der Leitbündelscheide sind, mehr Inhalt führen und mit quergestellten Wänden aufeinander stoßen. In den Interzellulargang ragen meist isolierte Ringe hinein, die von solchen Gefäßtracheïden herrühren, welche während der Längsstreckung des Internodiums zerrissen wurden (*a*, *a'*). Sie stellen die Reste der Vasalprimanen vor. An den Interzellulargang stoßen nach außen ein oder mehrere, engere oder weitere, schraubenförmig oder netzförmig verdickte Gefäßtracheïden. In dem abgebildeten Schnitt war nur e i n e solche, und zwar eine ziemlich enge, schraubenförmig verdickte Gefäßtracheïde (*sp*) vom Messer gestreift worden. Dann folgten relativ kurze Vasalparenchymzellen mit getüpfelten oder netzförmig verdickten Wänden; dazwischen auch tracheïdale, entsprechend ver-

dickte Elemente. — Der Siebteil ist in dem Korallinpräparat an den dicken, rosenrot gefärbten Querwänden, den Siebplatten, der Siebröhren (*v*), kenntlich. Diese Siebplatten sind stark lichtbrechend, und die stärkere Vergrößerung zeigt, daß sie von feinen Poren durchsetzt, siebförmig durchbrochen sind, und daß an ihnen einseitig, seltener beiderseitig, stark lichtbrechender Zellinhalt, ein „Schleimpfropf" angesammelt ist. In der Peripherie des Siebteils (bei *cp*), wo im Querschnitt die gequollenen Zellwände der Kribralprimanen sichtbar waren, leuchtet auch wohl noch eine besonders schön rosenrot gefärbte Querwand auf. Es ist das eine mit Kallusbeleg bedeckte Siebplatte, deren Bau wir an anderen günstigeren Objekten weiterhin studieren wollen. Die dort vorhandene Kallose nimmt begierig das Korallin (Rosolsäure) auf, und es treten daher die Kallusplatten so scharf gefärbt hervor[1]). Neben den Siebröhren lassen sich deutlich die Geleitzellen (*s*) erkennen. Sie sind schmäler und kürzer als die Siebröhren und führen reichlichen zytoplasmatischen Inhalt und einen leicht sichtbaren Kern. Sklerenchymfasern der Leitbündelscheide mit stark geneigten Querwänden grenzen dann wieder das Leitbündel nach außen ab. Die innersten dieser Scheidenelemente weisen, wie uns schon der Querschnitt zeigte, ein relativ weites Lumen auf. — Stärkekörner sind in den Zellen des Leitbündels nicht zu finden, sie fehlen aber auch in den Zellen des Grundgewebes. Alle Zellen des Leitbündels und des Grundgewebes, mit Ausnahme der Tracheïden und der Tracheen, führen Kerne. — Es ist klar, daß ein solcher medianer Längsschnitt des Leitbündels, wie der eben beschriebene, keines der beiden großen Gefäße uns unmittelbar vorführen kann. Wohl schimmert ein solches Gefäß unter den anderen Zellen hindurch, ist aber nicht deutlich zu sehen. Um den Längsschnitt eines der großen Gefäße zu studieren, suchen wir uns daher einen Schnitt aus, der das Leitbündel seitlich traf. Hier stellen wir dann fest, daß das große Gefäß mit quer gestreckten Tüpfeln versehen, seltener netzförmig oder schraubenförmig verdickt ist. In den getüpfelten Gefäßen bilden die verdickten Stellen ein Netzwerk. Die Tüpfel erweitern sich an ihrem Grund, sind aber doch nur einseitig behöft, weil den entsprechenden Tüpfeln der angrenzenden Belegzellen des Vasalparenchyms ein Hof abgeht. Auch sind jene Zellen schwächer als die Gefäße verdickt. Die Diaphragmen der großen Gefäße fallen an den Längsschnitten sehr in die Augen. Sie stellen einen doppelt zusammengesetzten Ring dar, der übrigens nur bis zu geringer Tiefe in das Lumen des Gefäßes hineinragt. Diese Ringe sind durch Verdickung der Außenränder der Querwände entstanden, deren innerer, unverdickter Teil aufgelöst wurde. So können wir aus der Zahl der Diaphragmen auf die Zahl und Größe der Zellen, die das Gefäß gebildet haben, schließen. An den der Insertion der Diaphragmen entsprechenden Stellen zeigt sich das Gefäß schwach eingeschnürt.

Den Stengel von Zea Mays kann, falls diese Pflanze nicht zur Verfügung steht, der Stengel des Hafers, Avena sativa, oder einer anderen Graminee ersetzen. Man würde die Leitbündel in allen diesen Fällen annähernd gleich gebaut finden.

---

[1]) Nach J. Szyszylowicz, Bot. Zentralbl., Bd. XII, 1882, S. 138.

Sehr lehrreich sind kombinierte Färbungen der Präparate, die sich durch aufeinander folgende Behandlung mit verschiedenen Farbstoffen oder gleichzeitige Färbung mit einem Farbengemisch erzielen lassen. Wir wollen mit Stengelquerschnitten von Zea Mays einige solche Doppelfärbungen versuchen. Sehr schöne Doppelfärbungen erhalten wir, wenn wir die Schnitte kurze Zeit in wässriger Methylgrünlösung, dann etwas länger in Paul Mayerschem Karmalaun (Alaunkarmin) liegen lassen. Momentane Doppelfärbung können wir mit Pikro-Nigrosin (vgl. Reg. IV) oder mit Pikro-Anilinblau erzielen. In den Karmalaun-Methylgrün-Präparaten sind die unverholzten Wände durch das Karmin, die verholzten durch das Methylgrün gefärbt[1]). In den Pikrin-Doppelfärbungen bestimmt das Pikrin die Färbung der verholzten, das Nigrosin oder Anilinblau die der unverholzten Elemente. Der fixierte Zellinhalt hat die Färbung des Karmins bzw. des Nigrosins oder Anilinblaus angenommen. Sind die Schnitte sehr dünn und zart ausgefallen, so folge man beim Übertragen von einer Färbeflüssigkeit in die andere, dem Vorschlag von Coupin[2]), indem man sie in ein etwa 5 cm langes und 2,5 cm breites Glasröhrchen bringt, dessen eines, vorteilhafterweise etwas erweitertes Ende mit dünnem, porösem Papier verschlossen wurde. Dieses Röhrchen läßt man mit dem papierverschlossenen Ende der Reihe nach in die verschiedenen Farblösungen eintauchen.

Es dürfte sich auch empfehlen, von Zea Mays Dauerpräparate herzustellen. Weder die Chlorzinkjodfärbung, noch die mit Korallin-Soda hält sich auf die Dauer; aber auch die von uns versuchten Doppelfärbungen verblassen mit der Zeit, und nur die Karminfärbung pflegt zu widerstehen. Sehr zu empfehlen ist hingegen für solche Dauerpräparate die Färbung mit wässriger Safraninlösung, weil sich diese Farbe vorzüglich hält. Da das Safranin außerdem gut differenziert, d. h. die verschiedenen Zellwände je nach dem Grad ihrer Verholzung und sonstigen Eigentümlichkeiten in verschiedenen Tönen färbt, so sind derartige Präparate äußerst lehrreich. Sehr haltbar sind auch Fuchsinfärbungen[3]). Man legt die Schnitte eine Zeitlang in wässrige Fuchsinlösung und spült sie dann mit einer Pikrinsäurelösung ab, die auf 1 T. konz. alkohol. Pikrinsäure 2 T. Wasser enthält. Solche Präparate müssen hierauf gut in Alkohol ausgewaschen werden. Die verholzten Zellwände sind dann intensiv rot gefärbt.

Die mit Safranin oder Methylgrün-Karmin gefärbten Schnitte schließen wir in Glyzerin-Gelatine ein. Auch chemisch reines Glyzerin ist als Einschlußmedium für diese Präparate sehr geeignet, verlangt dann aber noch einen besonderen, luftdichten Verschluß. Man stellt diesen mit einer sirupdicken Lösung von Kanadabalsam in Chloroform, bzw. in Benzol, Xylol oder Terpentin, oder mit Gold-Size her. Nach Auflegen des Deckglases entfernt man zunächst sorgfältig mit Fließpapier am Rand des Deckglases das etwa hervorgetretene Glyzerin und umzieht dann diesen Rand mit einem streichholzdünnen Glasstab,

[1]) Diese Färbung soll auf die Gegenwart von stickstoffhaltigen Verbindungen, welche die verholzenden Stoffe begleiten, zurückzuführen sein. Géneau de Lamarlière, Rev. gén. de Bot., Bd. XV, 1903, S. 221.

[2]) H. Coupin, Rev. gén. de Bot., Bd. VIII, 1896, S. 71.

[3]) A. Zimmermann, Bot. Mikrotechnik, S. 145. S. a. die 2. Aufl., herausg. v. H. Schneider, Jena 1922, S. 265.

der in das Verschlußmedium getaucht wurde. Letzteres darf aber nur in dünner Schicht aufgetragen werden und nur wenig auf das Deckglas herübergreifen. Um die mit Kanadabalsam verschlossenen Präparate später auch mit homogener Immersion untersuchen zu können, tut man gut, den Kanadabalsam, nachdem er vollkommen trocken wurde, mit einer ganz dünnen Schicht von Gold-Size zu überziehen. Dabei verwende man einen feinen Pinsel. Gold-Size wird von dem Immersionsöl nicht angegriffen, während dies bei dem Kanadabalsam der Fall ist.

Es empfiehlt sich, den Kanadabalsam bzw. auch andere Einschluß- oder Verschlußmedien in dem Gläschen aufzubewahren, das in der Einleitung S. 10 an erster Stelle für Zedernholzöl vorgeschlagen wurde.

Glyzerin-Gelatinepräparate, deren dauernde Erhaltung man wünscht, müssen, wie schon im Abschnitt II (S. 124) angegeben wurde, nach längerer Zeit, etwa einem halben Jahr, doch nicht früher, weil sonst die Deckgläser öfters springen, in der eben angegebenen Weise mit Kanadabalsam bzw. außerdem Gold-Size verschlossen, d. h. ebenfalls luftdicht zugekittet werden. Geschieht das nicht, so pflegen die Deckgläser zu beschlagen, die Präparate nach einigen Jahren auch wohl zu verderben.

Um provisorisch Präparate zu verschließen, die in einer der Verdunstung ausgesetzten Flüssigkeit liegen und zunächst noch weiteren Manipulationen zugänglich bleiben sollen, benutzt man am besten Wachs (s. S. 125).

Im allgemeinen tut man gut, den Schnitt zuerst in jene Farblösung zu legen, welche die verholzten Wände färbt, ihn dann in Wasser, soweit nötig, auszuwaschen und in die andere Farblösung zu übertragen. Über den Wert solcher Färbungen für Dauerpräparate wird vor allem die Haltbarkeit der Färbung in dem Einschlußmedium entscheiden. Die Zahl der haltbaren Färbungen ist relativ nicht groß. Daher wird man auch häufig vorziehen, sich auf die einfache Färbung mit Safranin zu beschränken, weil diese haltbar ist. Dazu kommt, wie schon erwähnt wurde, daß das Safranin schön differenziert, die verholzten Elemente mehr kirschrot, die unverholzten braunrot färbt. Das schon empfohlene Fuchsin wird man seiner Haltbarkeit wegen für die Färbung der verholzten Elemente ebenfalls gern benutzen. Als haltbare, schöne Doppelfärbungen lassen sich z. B. Solidgrün und Deltapurpurin empfehlen, wobei sich die Gefäße intensiv grün, die unverholzten Gewebe rot färben. Instruktive Doppelfärbungen geben auch Chrysoidin mit Kongorot[1]) bzw. einem Azurin oder Purpurin.[2]), Hämatoxylin und Benzopurpurin, Karmalaun und Methylenblau, Berlinerblau und Safranin[3]), Hämatoxylin und Naphtylamin[4]). — Diejenigen Farbstoffe, welche die verholzten Zellwände in den Präparaten färben, sind es, die in der Färbereipraxis Wolle und Seite substantiv, d. h. ohne Hilfe von Beizen färben; diejenigen Farbstoffe, welche die unverholzten Zellwände tingieren, färben andererseits substantiv die Baumwolle[5]). Es empfiehlt sich unter Umständen, bei Präparaten, die so gefärbt in Gly-

[1]) „Réactif genevois" (vgl. Reg. IV) nach R. CHODAT, Arch. des sc. phys. et nat., 3. sér., T. XXV, 1891, S. 465. Ferner CH. BERNARD, Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. XVII, 1904, S. 252.

[2]) E. VINASSA, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. VIII, 1891, S. 42.

[3]) J. CHALON, Bull. de la Soc. de Belgique, Bd. XXXVII, 1898, S. 86.

[4]) H. PFEIFFER, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XIV, 1897, S. 202.

[5]) E. VINASSA, l. c. 1891, S. 44.

zerin-Gelatine eingeschlossen werden sollen, den Farbstoff, damit er nicht durch das Glyzerin ausgezogen wird, zu fixieren. Für Amidofarben, wie Methylenblau, Fuchsin, wird man dazu eine Beize von Gerbstoff und dann Brechweinstein benutzen, für Oxyazofarben, wie Ponceau, eine Beize von Zinnchlorid. In manchen Fällen wird 10-proz. Alaunlösung als Beize gute Dienste tun. Eine Anzahl Amidoazofarben, wie das Benzopurpurin, fixieren sich schon im alkalischen Bad ohne eine andere Beize. Welche Beize im einzelnen Falle aber anzuwenden ist, keine Trübung verursacht, vielmehr besonders klare Bilder gibt, ist stets erst auszuprobieren [1]). — Für Doppelfärbungen im Anschluß an die zuvor geschilderte Fuchsintinktion hat man im besonderen noch eine einstündige Behandlung der Schnitte mit Hämalaun oder mit Anilinblau oder mit Methylenblau oder Berlinerblau empfohlen. Die Schnitte müssen dann wieder mit Alkohol ausgewaschen werden. Will man solche Präparate in Balsam einschließen, so überträgt man sie in Xylol und dann in eine Lösung von Kanadabalsam in Xylol [2]). Die unverholzten Wände solcher Präparate sind violett, bzw. blau gefärbt. An Stelle des Fuchsins läßt sich in gleicher Weise Säurefuchsin (Fuchsin S. bei *Dr. Grübler & Co.*) anwenden, das man mit fließendem Wasser oder mit Pikrinsäure, so wie das Fuchsin, auszuwaschen hat. — Als besonders dauerhaft wurde auch noch folgende Färbung verholzter Membranen angeführt [3]). Man mische 0,5-proz. Methylgrünlösung mit 5-proz. Fuchsinlösung im Verhältnis von 4 : 1, lege die Schnitte 8—10 Min. lang in dieses Gemisch, um sie dann abwechselnd mehrmals mit Wasser und 96-proz. Alkohol auszuwaschen. Dann spüle man mit Alk. abs. so lange ab, bis die verholzten Membranen einen violetten oder rotblauen, die anderen Gewebe einen blauen oder blaugrünen Ton angenommen haben. In Kanadabalsam eingeschlossen, sollen sich diese Präparate unverändert jahrelang halten. Während wässr. Fuchsinlösungen, mit alkohol. Pikrinsäurelösung entsprechend ausgewaschen, nur die verholzten Membranen färben [4]), erlangt man durch Anwendung von ammoniakalischer Fuchsinlösung gleichzeitige, intensive Färbungen der verholzten, verkorkten und kutinisierten Wände. Man setzt zu diesem Zweck einer konz. alkohol. Fuchsinlösung so lange Ammoniak zu, bis sie strohgelb wird. Entsprechend verhalten sich wässr. Lösungen von Zyanin, die etwa 20 Tropfen einer konz. alkohol. Zyaninlösung auf 100 ccm Wasser enthalten. Sie färben die verholzten, verkorkten und kutinisierten Wände schön blau. Vielfach wird eine schwächere Färbung der kutinisierten Membranen, besonders der Kutikula, im Verhältnis zu den verkorkten Wänden festzustellen sein. Zu Doppelfärbungen mit Gentianaviolett oder Zyanin läßt sich Eosin verwenden, das die unverholzten Zellwände schön rot färbt. Man kann dieses Eosin in Nelkenöl auflösen, mit dem man die Präparate vor ihrer Einbettung in Balsam zugleich aufhellt [5]). — Schöne Doppelfärbungen sind auch mit Sudan-Brillantblau zu erreichen. Man verwendet dazu eine Lösung von Sudan III in 60-proz. Alkohol, der man Brillantblau und Chloranilin zusetzt [6]).

---

[1]) E. VINASSA, l. c. 1891, S. 50.

[2]) A. ZIMMERMANN, Bot. Mikrotechnik, S. 145. S. a. die von H. SCHNEIDER herausgegebene 2. Aufl., Jena 1922, S. 272.

[3]) G. ARCANGELI, Bull. della Soc. Bot. Ital., 1899, S. 167.

[4]) A. ZIMMERMANN, Bot. Mikrotechnik, S. 145. S. a. 2. Aufl., Jena 1922, S. 265.

[5]) Ebenda, S. 151, bzw. 2. Aufl., 1922, S. 272.

[6]) G. LAGERHEIM, Svensk Farmac. Tidskr., 1902, No. 20; vgl. a. Reg. IV, Karmingrün.

Nach etwa einstündiger Einwirkung des Farbgemisches werden die Schnitte in schwach mit Salzsäure angesäuertem Wasser ausgewaschen. Es erscheinen dann in ihnen die Zellulosemembranen und die verholzten Partien blau, die verkorkten rot.

Dem Glyzerin widerstehen in den Präparaten meist gut: Magdalarot, Hämatoxylin, Benzoazurin, Benzopurpurin, Methylenblau, Orseillin, Naphtolschwarz, Zyanin, Naphtylenblau; von Doppelfärbungen: Berlinerblau und Safranin, Karmalaun und Methylgrün, Karmin und Methylenblau. In Glyzerin-Gelatine halten sich dauernd: Fuchsin, Benzoazurin, Magdalarot, unter Umständen auch Hämatoxylin; in den HOYERschen Einschlußflüssigkeiten: Zyanin, Kongorot, Anilinblau und Safranin[1]). Mit Boraxkarmin gefärbte Präparate sollen besonders gut in Gummi arabicum, das in wässr. Glyzerin gelöst wurde, ihre Färbung beibehalten[2]). In Kanadabalsam halten sich sehr gut Färbungen mit Safranin, Orange, Gentianaviolett, Methylenblau, Methylgrün und Hämatoxylin; Fuchsinfärbungen erwiesen sich hier nur ausnahmsweise lange haltbar. — Dauerpräparate, die ihre Färbung zu verlieren beginnen oder verloren haben, kann man dadurch retten, daß man sie nach Entfernung des Einschlußmittels von neuem färbt[3]).

Die Fähigkeit, Metalle zu speichern, kommt, wie DEVAUX[4]) gezeigt hat, verholzten Membranen nur nach vorheriger Behandlung mit JAVELLEscher Lauge zu, während pektinhaltige Membranen diese Eigentümlichkeit ohne weitere Vorbehandlung zeigen (vgl. S. 176). Dieses Verhalten kann man auch zur Erzielung von Doppelfärbungen benutzen[5]). Um einen durch das Vorhandensein von Gerbstoff bedingten, schwarzen Niederschlag zu vermeiden, werden die Schnitte vorher 2 Tage in 96-proz. Alkohol gelegt. Schnitte, die aus älterem Alkoholmaterial stammen, brauchen bloß kürzere Zeit in 96-proz. Alkohol abgespült zu werden. Nach dieser Vorbehandlung kommen die Schnitte für mindestens 48 Std. in einen alkohol. Auszug käuflichen Saflors. Hierauf werden sie in Aq. dest. abgespült, für 15—30 Sek. in eine 0.25-proz. wässr. Eisenchloridlösung gebracht und nach nochmaligem Abspülen mit Wasser in eine 0,5-proz. wässr. Ferrozyankaliumlösung; dann werden sie in Aq. dest., dem einige Tropfen verd. Salzsäure beigegeben sind, abgewaschen. Hierauf gelangen sie für einige Sekunden in eine heiße, wässr. Lösung von Alkanna, die aus einem konz. alkohol. Auszug von Alkannarinde durch Hinzufügen von Wasser und Verdampfenlassen des Alkohols frisch bereitet werden soll. Nach wiederholtem Abspülen können die Schnitte sowohl durch 50-proz. Glyzerin in Glyzerin-Gelatine, als auch durch schnelles Durchführen in Alk. abs., dann in ein Gemisch von gleichen Teilen Chloroform und Alk. abs., hierauf in wasserfreies Chloroform, schließlich in mit Chloroform gelösten Kanadabalsam eingeschlossen werden. Die unverdickten Zellwände werden dann blau, Holz- und Bastfasergewebe gelb, Kutikular- und Korkgewebe rot gefärbt. Ferner soll folgende Goldtinktionsmethode[6]) durchaus dauerhafte Präparate geben. Auch bei dieser sind die Gerbstoffe durch eine 48-stündige Alkoholbehandlung bei frischem, durch kurzes Abspülen bei Alkohol-Material aus den Schnitten zu beseitigen. Dann kommen

[1]) J. CHALON, Bull. de la soc. Bot. de Belgique, Bd. XXXVII, II. T., 1898, S. 80.
[2]) A. C. SCALA, Revista del Museo de La Plata, T. XV, 1908, S. 221.
[3]) Vgl. dazu Reg. IV Dauerpräparate.
[4]) M. DEVAUX, Proc. verb. de la Soc. Linn. de Bordeaux, März 1901.
[5]) A. v. TOMPA, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XX, 1903, S. 24.
[6]) A. v. TOMPA, l. c. 1903, S. 26.

die Schnitte in eine Zinnchlorürlösung, die man sich zweckmäßig selbst herstellt: Man läßt Zinnmetall (Stanniolfolien) einige Std. mit verd. Salzsäure kochen. Nachdem sich ein genügender Niederschlag von Zinnchlorür gebildet hat, gießt man die ganze Flüssigkeit samt dem darin befindlichen Zinnmetall zur Aufbewahrung in eine gut schließende Glasflasche. Von dieser konz. Lösung nehme man 5 ccm auf je 10 ccm Aq. dest. und lasse darin die Schnitte 24 Std. lang liegen. Dann spült man sie in Aq. dest., dem etwas Salzsäure beigegeben wird, ab und bringt sie für höchstens 30 Sek. in eine 0.1-proz. wässr. Lösung von Aurum chloratum flavum, die ebenfalls mit einem Tropfen Salzsäure angesäuert ist und auf etwa 25° erwärmt sein soll. Nach abermaligem Abspülen in angesäuertem Wasser kommen die Schnitte in eine 50-proz. wässr. Glyzerinlösung, in der sie 24 Std. liegen bleiben. Erst während des Aufenthalts in dieser Lösung soll die schöne Purpur- bis Karminfärbung hervortreten. Damit ist allerdings ein Nachdunkeln verbunden, weshalb ein zu intensives Färben zu vermeiden ist. Die Schnitte können hierauf durch Alkohole steigender Konzentration und Chloroform in Chloroform-Balsam eingeschlossen werden. Gefärbt werden nur die unverholzten Elemente wie jene des Bastparenchyms, des Kambiums und der Markstrahlen, sowie auch die Thyllen.

Wir stellen jetzt einige Quer- und Längsschnitte durch ein völlig ausgewachsenes, in Alkohol aufbewahrtes Blatt von Iris florentina her. Auch in diesem Fall geben wir dem Alkohol-Material den Vorzug, weil es leichter gute Schnitte liefert, keine Luft enthält und außerdem den Zellinhalt fixiert vorführt, so daß wir uns auch über diesen leicht unterrichten können. Das Schneiden erleichtern wir uns, indem wir das Material zuvor eine Zeitlang in einem Gemisch von Alkohol und Glyzerin liegen lassen. — Wir tragen die Schnitte für einige Std. in alkohol. Boraxkarmin ein und behandeln sie hierauf kurze Zeit mit Methylgrün. — Der Inhalt der Zellen hat Karmin aufgenommen, das als Boraxkarmin die Zellwände nicht färbt; andererseits sind die verholzten Wände mit Methylgrün grün tingiert worden. Grün gefärbt erscheinen demnach die Gefäßtracheïden, gewöhnlich auch noch die äußeren, oder fast alle die an den Bastteil stoßenden Elemente der Scheide. Außerdem fällt uns auch stets eine Gruppe von Elementen mit gequollenen Wänden, die Kribralprimanen, in der äußeren Region der Siebteile durch ihre Blaufärbung auf. — Wir wollen nun gleich mit dem Studium eines so behandelten Querschnitts beginnen, nach dem auch die Fig. 113 entworfen ist. In dieser sind alle die protoplasmatischen Inhalt führenden Zellen im Gefäßteil, die infolgedessen auch durch ihre Rotfärbung auffallen, im Innern ausschattiert, ebenfalls die Elemente des Siebteils (v) und die blau gefärbte Gruppe der Kribralprimanen (cp). Die grün gefärbten Wände der Gefäßtracheïden sind andererseits im Bild dunkel gehalten. Die an den Siebteil grenzenden, verdickten Elemente des Grundgewebes waren, da der Schnitt der die Wachstumszone darstellenden Basis des Blattes entstammte, noch unverholzt und blieben daher ungefärbt. — Ein Präparat, das rasch gefärbt werden soll, dürfte mit Methylgrün allein zu behandeln sein; dann fiele nur die hier geschilderte Rotfärbung des Zellinhalts weg. Soll das Methylgrün nur die verholzten Zellwände färben, so muß der richtige Zeitpunkt der Färbung sorgfältig abgepaßt werden. — Wir schreiten mit der Beobachtung von dem Gefäßteil gegen den Siebteil fort, also von der nach innen gekehrten Oberseite des Blattes gegen die nach außen gekehrte Unterseite. Zunächst stellen wir fest, daß die Zahl der gefäß-

artigen Tracheïden im Gefäßteil ziemlich groß ist, und daß deren Weite gegen den Siebteil abnimmt. Echte Gefäße sind nicht vorhanden. Die Gefäßtracheïden stoßen entweder unmittelbar aneinander, oder sie sind durch schwach verdickte, relativ englumige inhaltsreiche Zellen des Vasalparenchyms getrennt. Solche Zellen umgeben die Gefäßtracheïden auch an den Flanken des Bündels und trennen sie vom Grundgewebe. An dem inneren Rand des Gefäßteils sind stets einige zerquetschte Elemente, Vasalprimanen (s_s), zu sehen, deren Wände wie jene der Gefäßtracheïden gefärbt sind. Der Siebteil zeigt wiederum eine Abwechslung größerer und kleinerer Zellen, doch ist der Gegensatz hier nicht so auffallend und die Regelmäßigkeit der Anordnung nicht so groß wie bei Zea. Die weitlumigeren Zellen sind die Siebröhren, die durch reicheren Inhalt ausgezeichneten kleineren die Geleitzellen. In der äußeren Region des Siebteils liegen die schon erwähnten mit mehr oder weniger deutlich blau gefärbten und gequollenen Wänden versehenen, außer Tätigkeit gesetzten Kribralprimanen (*cp*). Dieser äußere Siebteil wird umfaßt von den stark verdickten Sklerenchymfasern der Scheide, die als mehr oder weniger mächtiger Strang das Leitbündel stützen. Um den übrigen Teil des Leitbündels ist die Scheide nicht scharf abgesetzt, doch stellt man fest, daß die dem Leitbündel nächsten Zellen des Grundgewebes englumiger sind, und daß sie lückenlos aneinanderschließen.

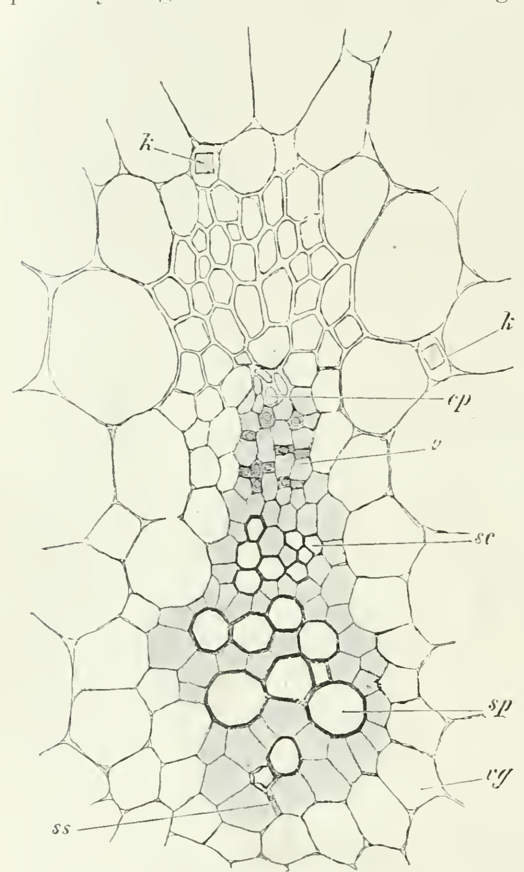


Fig. 113. Leitbündelquerschnitt aus dem Blatt von Iris florentina. Dunkel konturiert die Gefäße; im Innern ausschattiert die inhaltreichen Zellen im Bündel. *ss* zerquetschte Schraubentracheïden (Vasalprimanen), *sp* weitere Schraubentracheïden, *sc* leiterförmig verdickte Gefäßtracheïden, *v* Siebröhren, zwischen diesen die engeren Geleitzellen, *cp* zerquetschte Siebröhren und Geleitzellen (Kribralprimanen), *vg* Scheide, *k* Querschnitt durch einen Kristall. Vergr. 240.

Bei genauerem Durchmustern der Umgebung der Bastseite der Bündel muß es auffallen, daß einzelne an die Sklerenchymfasern anlehnende, englumige Zellen einen stark lichtbrechenden Kristall (Fig. 113 *k*) führen, der sich im Querschnitt oder in Scheitelansicht zeigt; wir werden uns über seine Gestalt auf Längsschnitten leichter unterrichten können. Ebensolche Kristalle in engen Zellen zeigen sich auch zwischen den weiten Zellen des Blattgewebes zerstreut.

Zur Prüfung der bis jetzt gewonnenen Ergebnisse stellen wir auch noch einige Querschnitte durch ein frisches Blatt her. Wir stellen dann fest, daß die großen Zellen des Grundgewebes in den äußeren Teilen des Blattes Chlorophyllkörner führen, die zu den Gefäßbündelscheiden zählenden Zellen der Chlorophyllkörner aber entbehren. An den frischen Präparaten füllen sich die Gefäßtracheïden mit Luft, daher sind die Bilder weniger klar als an Präparaten aus Alkoholmaterial.

Ein Längsschnitt durch das Blatt, der median ein Leitbündel traf, zeigt uns am inneren Rand dieses Leitbündels stark gedehnte, z. T. zerquetschte Schraubentracheïden, die wir bereits im Querschnitt bei *ss* sahen und als Vasalprimanen bezeichneten. Es folgen weitere, enger gewundene Schraubentracheïden, dann wieder englumige, mit leiterförmiger Wandverdickung. Im Siebteil heben sich die Siebröhren nur dann deutlich hervor, wenn wir ihre Siebplatten, so wie wir es bei Zea getan, mit Korallin färben. Weiter nach außen fallen durch ihre starke Verdickung, bedeutende Länge und Zuspitzung die Sklerenchymfasern auf.

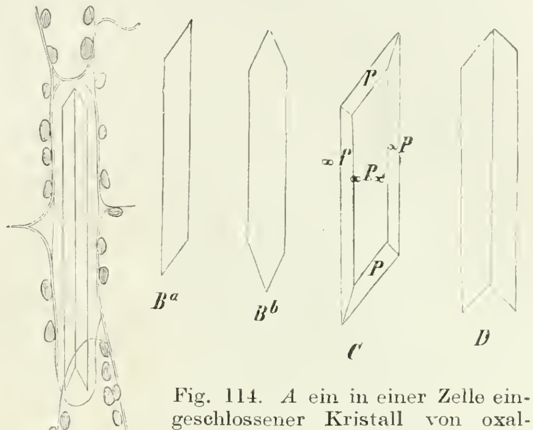


Fig. 114. *A* ein in einer Zelle eingeschlossener Kristall von oxalsaurem Kalk aus dem Blatt von Iris florentina. Vergr. 240. *B—D* Figuren zur Erläuterung der vorkommenden Kristallformen. (Vgl. den Text.)

Die Kristalle zeigen sich, da sie parallel zur Längsachse des Blattes gerichtet sind, auf Längsschnitten nach der Vertikalachse gestreckt (Profilansicht) (Fig. 114 *A—D*). Sie liegen in langgestreckten Grundgewebezellen, die nur wenig größer als der Kristall selbst sind. Diese Zellen führen kein Chlorophyll, während die benachbarten meist chlorophyllhaltig sind. Die in Frage stehenden Kristalle lösen sich ohne Gasentwicklung leicht in Salzsäure auf, woraus wir schon schließen können, daß sie aus oxalsaurem Kalk bestehen. Alle die hier vorkommenden Kristalle haben langprismatische Ausbildung und gehören dem monoklinen System an; die meisten erweisen sich als Zwillinge (*D*).

In Längsschnitten zeigen diese Kristalle dreierlei Gestalt[1]). Die einen besitzen eine einseitige, schräge Zuspitzung an beiden Enden (*Ba*), die anderen zeigen an beiden Enden eine zweiseitige Zuspitzung (*Bb*). Beides sind einfache Kristalle von monoklinem Charakter; sie entsprechen der Kombination: — P · ∞ Ᵽ ∞ · ∞ P, die in *C*, auf die Symmetrieebene projiziert, dargestellt ist. Andere, und zwar die meisten unter den beobachteten Kristallen, erweisen sich endlich als Zwillinge. Diese zeigen den Typus der Gipszwillinge (*D*); an dem einen Ende erscheint ein schwalbenschwanzartig einspringender Winkel von 70—72°, an dem anderen Ende

[1]) Nach A. v. LASAULX, Sitzber. Niederrhein. Gesellsch. f. Natur- u. Heilkunde, Bonn 1883, S. 4.

der entsprechend ausspringende Winkel. Im polarisierten Licht tritt die Zwillingsgrenze parallel der Vertikalachse deutlich hervor. Es sind Zwillinge nach dem Gesetz: Zwillingsebene als Orthopinakoid.

Geschlossene Leitbündel sind des Dickenwachstums nicht fähig; wo ein solches somit bei Monokotylen sich einstellt, erfolgt es nicht durch Vermittlung der Leitbündel. Dieses Dickenwachstum findet vielmehr entweder durch Vergrößerung der vorhandenen, eventuell noch in Zellteilung eintretenden Elemente im Stamm statt, wie bei Palmen[1]). oder mit Hilfe einer außerhalb der Leitbündel auftretenden Kambiumzone. Letztere Art zeigt sich auf die Dracaeneen, Yucceen, Aloineen und Dioscoreaceen beschränkt. Der Zuwachs geschieht bei diesen vielfach in deutlich erkennbaren, den Jahresringen in gymnospermen und dikotylen Hölzern vergleichbaren[2]) Zonen, was meist mit den klimatischen Bedingungen und dem dadurch bedingten periodischen Wechsel zwischen Trieb- und Ruhezeit zusammenhängt[3]).

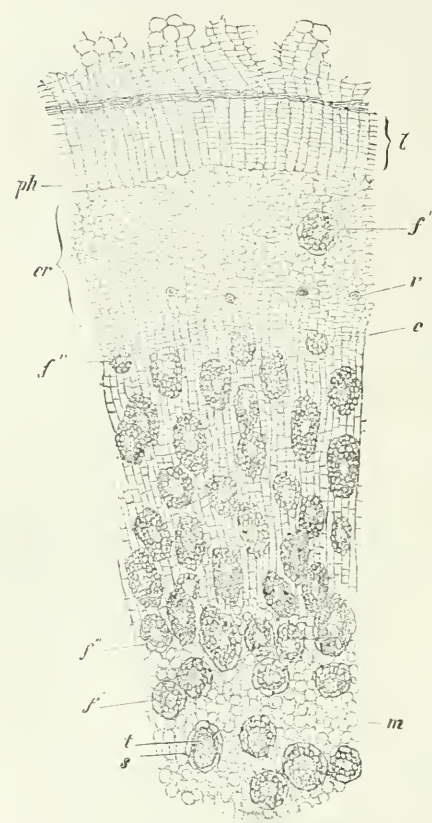


Fig. 115. Cordyline rubra. Querschnitt durch den Stamm. *f* Leitbündel, und zwar *f'* primäre, *f''* sekundäre, *f'''* ein aus einem Blatt kommendes, noch innerhalb der primären Rinde befindliches Leitbündel, *m* parenchymatisches Grundgewebe, *s* Leitbündelscheide, *t* Tracheïden, *c* Kambiumring, *cr* Rinde, etwa von *cr* an nach außen primär, nach innen sekundär, *ph* Phellogen, *l* Kork, *r* Raphidenbündel. Vergr. 30.

Wir wählen als günstigstes Untersuchungsobjekt die bei jedem Handelsgärtner kultivierte C o r d y l i n e, die in den Gärten als D r a c a e n a r u b r a geführt wird. Die Pflanze muß freilich dem Zweck der Untersuchung geopfert werden. Betrachten wir zunächst den quer durchschnittenen Stamm mit dem bloßen Auge, so sehen wir nach innen von der braunen Korkschicht die grüne, etwa 1 mm dicke, weiche Rinde, auf die das gelbliche, harte Gewebe des Holzkörpers folgt. Zwischen beiden liegt der Kambiumring. In dem gelblichen Gewebe des Zentralzylinders zeichnet sich außerdem eine kreisförmig umschriebene Mitte durch lichtere Färbung aus.

---

[1]) J. C. SCHOUTE, Ann. Jard. Buitenzorg, 2. Ser., Bd. XI, 1912, S. 1 ff.; ferner A. BORZI und G. CATALANO, Ac. Real. d. Lincei, Bd. CCCIX, 1912, S. 167.

[2]) Vgl. den IX. und X. Abschnitt dieses Praktikums.

[3]) L. LINDINGER, Naturw. Wochenschr., N. F., Bd. VIII, 1909, S. 491. Vgl. dazu auch E. ANTEVS, Progress. rei bot., Bd. V, 1917, S. 255 ff.

Wir untersuchen nunmehr einen Querschnitt bei schwacher Vergrößerung (Fig. 115). Da sehen wir in den mittleren Teilen des Stammes ein aus rundlichen Zellen gebildetes Grundgewebe (*m*), in dem isolierte, kreisrunde bis elliptische Leitbündel (*f'*) unregelmäßig verteilt sind. Von einer bestimmten Stelle an (*f''*) werden die Leitbündel zahlreicher, strecken sich in radialer Richtung und rücken so nahe aneinander, daß sie nur noch durch relativ schmale Grundgewebestreifen getrennt erscheinen. In diesen letzteren sind die Zellen stärker verdickt, grob getüpfelt, in der Richtung des Radius mehr oder weniger stark gestreckt und deutlich in radialen Reihen von oft geschlängeltem Verlauf angeordnet. Weiterhin gelangen wir an die Grenze zwischen dem gelblichen Holzkörper und der grünen Rinde (*c*). Hier finden wir eine aus flachen, streng radial angeordneten, dünnwandigen Zellen gebildete Zone. Es ist das der Kambiumring, der das Dickenwachstum des Stammes besorgt und bei den mit Dickenwachstum ausgestatteten Monokotylen fortfährt, außerhalb der die Peripherie des Stammes einnehmenden Leitbündelenden neue stammeigene Leitbündel zu bilden. Seinem Ursprung nach gehört er der innersten primären Rinde an[1]). Seine Zellen sind in Teilung begriffen und geben zunächst nur nach innen neue Elemente ab. Erst später beginnt dieser Kambiumring auch nach außen Zellen abzugeben, die ein parenchymatisches, dünnwandiges Grundgewebe bilden und durch dieses die Rinde verstärken. Sobald diese beiderseitige Tätigkeit des Kambiumrings sich einstellt, weist er eine Initialenschicht auf. Die Teilungen erfolgen durch tangentiale Wände und erzeugen daher radial angeordnete Zellreihen, die sich von Zeit zu Zeit durch radial gestellte Wände tangential verdoppeln. In diesem jugendlichen, vom Kambiumring erzeugten Gewebe sind zahlreiche, in allen Stadien der Entwicklung begriffene Leitbündel zu sehen. Die jüngsten bestehen aus einer Gruppe dünnwandiger Zellen; die ältesten sind an ihrem inneren Rand schon fertig, während der dünnwandige Außenrand noch in den Kambiumring taucht und in Entwicklung begriffen ist. Die auf den Kambiumring nach außen folgende Rinde (*cr*) besteht aus rundlichen Zellen. Zwischen diesen fallen, vornehmlich in den inneren Teilen, einzelne Zellen auf, in denen feine Kristallnadeln dicht aneinander zu je einem Bündel (*r*) vereinigt liegen. Es sind das die sogenannten Raphidenbündel von oxalsaurem Kalk, die man hier meist in aufrechter Stellung sieht. Einzelne Raphidenzellen werden stets durch das Messer beim Schneiden geöffnet, und die feinen Nadeln über den Schnitt zerstreut. Die übrigen Rindenzellen führen Chlorophyllkörner. Zwischen diesen Zellen sieht man noch vereinzelte, runde Leitbündelquerschnitte (*f'''*), Leitbündeln zugehörend, die aus Blättern eintreten. Es folgt nach außen auf die sekundäre Rinde eine starke Lage dünnwandiger, farbloser. radial angeordneter Zellen (*l*), die durch Teilung der Zellen einer Korkbildungsschicht, des Korkkambiums (*ph*), entstand und an ihrer Außenseite in ein braunes, weniger regelmäßiges Gewebe übergeht. Es ist das die Korkschicht, und zwar jugendliches, farbloses Korkgewebe in den inneren, altes, unregelmäßig gestrecktes und gebräuntes Korkgewebe in den äußeren Teilen. Die aus dem Korkkambium und dessen Pro-

[1]) E. Carano, Annali di Bot., Bd. VIII, 1910, S. 1.

dukten bestehende Gewebeschicht bezeichnen wir als Periderm (vgl. den XIV. Abschn.). Ein solches zeigt sich besonders bei Dikotylen als Folge des sekundären Dickenwachstums und der dadurch veranlaßten Dehnung der äußeren Rindenteile entwickelt, kann sich aber auch, so im vorliegenden Fall, bei Monokotylen[1]) einstellen.

Behandeln wir einen dünnen Querschnitt mit Chlorzinkjodlösung, so erhalten wir bei deren längerer Einwirkung ganz prachtvolle Bilder, die wir bei stärkerer Vergrößerung eingehender studieren wollen. Die rundlichen Grundgewebeelemente der Stamm-Mitte haben sich schön violett gefärbt, und zahlreiche Tüpfel sind als weiße, ungefärbt gebliebene Flecke jetzt an ihnen sichtbar geworden. In den weniger dicht gelagerten, inneren Leitbündeln fällt uns vor allem eine exzentrisch gelegene Gruppe violett gefärbter Elemente auf; es ist das der Siebteil. Dieser wird umfaßt von gelbbraun bis rotbraun gefärbten Elementen, die dem Gefäßteil angehören. Wir haben es hier mit einem monokotylen konzentrischen Leitbündel zu tun, dessen Siebteil vollständig vom Gefäßteil umgeben wird. Wir bezeichnen es daher als amphivasal gebaut. Solche amphivasalen Bündel sind in Wurzelstöcken (Rhizomen) viel verbreiteter als in oberirdischen Stammteilen. — In den größeren Bündeln, die wir hier in gewohnter Weise vorwiegend in der Stamm-Mitte finden, stoßen an den inneren Rand des Siebteils Gefäßtracheïden, zwischen welche dünnwandige Vasalparenchymzellen eingeschaltet sind. Den Innenrand des Vasalteils nehmen zerdrückte Vasalprimanen ein. Die Gefäßtracheïden haben sich gelbbraun, die Vasalparenchym-Elemente meist ebenso, evtl. auch violett gefärbt. Der die Flanken und den Außenrand des Siebteils umgebende Gefäßteil besteht aus aneinanderstoßenden, typischen Tracheïden, deren Wände mit behöften Tüpfeln ausgestattet sind. Diese Tracheïden haben sich in der Chlorzinkjodlösung rotbraun gefärbt. Schon an den in Wasser untersuchten Schnitten mußten uns die Tracheïden durch die weiße Färbung ihrer Wände und die scharfe Zeichnung ihrer Trennungslinien auffallen. Der Siebteil ist von den Tracheïden durch eine dünnwandige Zellschicht getrennt, die sich größtenteils auch violett färbt und Vasalparenchym darstellt. Im Siebteil lassen sich bei aufmerksamer Betrachtung die weiteren Siebröhren von den engeren Geleitzellen unterscheiden; man erkennt auch wohl die englumigen, z. T. verquollenen, dem amphivasalen Bau der Bündel gemäß fast zentral gelegenen Kribralprimanen. — Das Leitbündel ist umgeben von einer vorwiegend doppelten Schicht verholzter, durch Chlorzinkjod gelbbraun gefärbter Elemente, die mit einfachen, rundlichen Tüpfeln an ihren Wänden versehen sind. Diese Elemente bilden die Leitbündelscheide. Durch ihr engeres Lumen und ihre Verholzung unterscheiden sich diese Scheidenelemente scharf von den anderen, violett gefärbten, ebenso getüpfelten Zellen des Grundgewebes. Sie schließen das Leitbündel luftdicht von den Interzellularen der Umgebung ab. An dem Außenrand großer Leitbündel sieht man die Scheidenelemente leistenartig in den Siebteil bis zu den Kribralprimanen vordringen. Diese Stellen entsprechen Durchlaßstreifen, welche die Verbindung des Leitbündels mit dem Grundgewebe erleichtern. — Zwischen den größeren Leitbündeln trifft man bereits kleinere, deren Zahl nach der Peripherie hin zunimmt. In dem Maße, als aber der Querschnitt des Leitbündels an Umfang abnimmt, stellt man

[1]) Vgl. u. a. P. La Floresta, Rendic. del Congr. Bot. di Palermo, 1903, S. 174; R. Falci, Contrib. alla Biol. veg. Palermo, Bd. III, 1904, S. 217.

fest, daß die Gefäßtracheïden an dessen Innenrand schwinden. An den kleinsten Bündeln finden wir um den ganzen Siebteil herum nur noch die behöft getüpfelten Tracheïden, die an dem Innenrand des Leitbündels stärker vertreten sind. Eingehende Untersuchung lehrt, daß die kleineren Bündelquerschnitte den unteren Enden der Leitbündel entsprechen. Es nähern sich nämlich die Leitbündel in ihrem Abwärtslauf der Peripherie und erfahren dabei jene Vereinfachung, wie sie uns in den nacheinander betrachteten Leitbündel-Querschnitten entgegengetreten ist. Erst so reduziert, verschmilzt das Leitbündel in der Peripherie des primären Zentralzylinders des Stammes mit einem anderen. — In dem sekundär erzeugten Gewebe treten uns nur noch behöft getüpfelte Tracheïden im Vasalteil der etwas radial gestreckten Leitbündel entgegen; in ihrer Mitte schließen diese Leitbündel einen sehr reduzierten Siebteil ein. Dieser Siebteil wird von einigen dünnwandigen Vasalparenchymzellen begleitet, bzw. mehr oder weniger vollständig umfaßt. Das radial angeordnete Grundgewebe, in dem diese sekundären Leitbündel verlaufen, läßt sich als Markstrahlgewebe bezeichnen. Es zeigt dieselben Beziehungen zu den Tracheïden der Leitbündel, wie die Markstrahlen bei den Gymnospermen und Dikotylen. Dieses ganze sekundäre Grundgewebe färbt sich mit Chlorzinkjodlösung gelbbraun. — Häufige Verschmelzungen der Bündel in tangential schiefen Richtungen sind zu bemerken; auf diese Weise stehen diese sekundär erzeugten Bündel untereinander und deren innerste mit den primären Bündeln in Verbindung. Die Zellen des Kambiumrings sind im Reagens stark gequollen, schön violett gefärbt. Hellere Flecke im Kambiumring bilden die noch stärker gequollenen und schwächer gefärbten Anlagen der Leitbündel. Die abgerundeten Zellen der Rinde sind auch violett gefärbt, die Korkzellen hingegen gelbbraun; nur die innerste, nach innen vorgewölbte Korkmutterzelle zeigt violette Wandungen.

Wir führen auch eine Anzahl radialer Längsschnitte aus und können schon an den in Wasser untersuchten feststellen, daß die Leitbündel des Stamminnern Schrauben- und Treppentracheïden und dazwischen langgestreckte, unbehöft getüpfelte Vasalparenchymzellen führen. Die behöft getüpfelten Tracheïden finden wir langgestreckt mit zugeschärften Enden. Ihre Hoftüpfel münden in das Zellumen mit engem, schräg aufsteigendem Spalt, und da die Neigung dieser Spalte in den anstoßenden Zellen die entgegengesetzte ist, so zeichnet sich in jedem Tüpfel ein dunkles Kreuz. Echte Gefäße gehen der Dracaena ab. Die Grundgewebeelemente im sekundären Zuwachs laufen in radialen Reihen. In den Siebteilen fallen die stark lichtbrechenden Siebplatten auf. Die Zellen der Kambiumringe sind reich an protoplasmatischem Inhalt, tafelförmig, von der Höhe der Grundgewebeelemente. Die Raphidenbündel der Rinde zeigen sich jetzt sehr schön in Seitenansicht. Jedes Bündel ist innerhalb seiner ellipsoidischen Zelle in homogenem Schleim eingebettet. — Ein mit Chlorzinkjodlösung behandelter, radialer Längsschnitt zeigt alle Siebteile violett gefärbt, wodurch diese leicht in die Augen fallen.

IX. Abschnitt.

Offene, kollaterale Leitbündel. Milchgefässe. Dickenwachstum der Dikotylen.

„Statolithen". Bikollaterale Leitbündel. Siebröhren. Kallose. Leptomin. Elemente des sekundären Zuwachses. Mazerationsverfahren.

Untersuchungsmaterial.

Ausläufer von Ranunculus repens, frisch oder in Alkohol. Stengel von Chelidonium majus, Alkoholmaterial. Zweige von Aristolochia Sipho, 3—4 mm dick, im Juni in Alkohol eingelegt oder um diese Zeit frisch untersucht.

Stengel von Ranunculus acer, frisch oder in Alkohol. Stengel von Cucurbita Pepo, frisches und Alkohol-Material.

Wichtigste Untersuchungsflüssigkeiten und Reagentien.

Glyzerin. — Chlorzinkjodlösung. — Chlorsaures Kali. — Salpetersäure.

Als erstes Objekt für das Studium offener, kollateraler Leitbündel, wie sie den Dikotylen eigen sind, wählen wir die Ausläufer des kriechenden Hahnenfußes, Ranunculus repens. Der Querschnitt zeigt, daß die Leitbündel getrennt voneinander verlaufen, doch zu einem einfachen Kreise im Stengel angeordnet sind. Das Grundgewebe besteht aus runden Zellen, die gegen die Oberfläche des Stengels hin kleiner werden, Chlorophyllkörner enthalten und größere Interzellularräume zwischen sich lassen. Die Oberfläche des Stengels nimmt die Epidermis ein. Im Innern ist der Stengel durch Auseinanderweichen und Zerreißen der Zellen hohl. Die Leitbündel (Fig. 116) machen durchaus denselben Eindruck, wie jene der Monokotylen; man erkennt die gleichen Teile in der nämlichen Anordnung wieder. Den Innenrand des Leitbündels nimmt dünnwandiges Vasalparenchym ein, in dem einige mehr oder weniger desorganisierte Vasalprimanen verlaufen; dann folgen an Weite zunehmende, schraubenförmig verdickte Gefäßtracheïden (*s*). Weiter nach außen schließen Gefäße mit quergestreckten Tüpfeln, dann solche mit typisch ausgebildeten Hoftüpfeln (*m*) an. Die relativ engen Gefäße in der Mediane des Leitbündels bilden eine zusammenhängende Gruppe, in der das Vasalparenchym vollständig fehlt. Das Kambium, das auf den Gefäßteil folgt, bildet einen queren Gewebestreifen (*c*), der aus mehreren Schichten flacher, unverholzter, in geraden Reihen angeordneter Zellen besteht. Der leicht kenntliche Siebteil ähnelt durchaus jenem von Zea Mays und wird, wie auch dort, nur aus Siebröhren (*v*) und Geleitzellen in ziemlich regelmäßiger Abwechslung aufgebaut. Einige Kribralprimanen schließen nach außen an. — Eine Leitbündelscheide

(*vg*) aus Sklerenchymfasern, die besonders kräftig um den Siebteil entwickelt ist, umgibt das Leitbündel. Sie berührt am Außenrand des Siebteils meist direkt die Kribralprimanen; eine Lage unverdickter Zellen, die aber schon zur Leitbündelscheide gehören, trennt, wie bei Zea Mays, den Siebteil seitlich von den verdickten Elementen. Der Grenze vom Gefäßteil und Siebteil entsprechend, zeigt die Leitbündelscheide sehr deutlich ausgebildete Durchlaßstreifen. Sie be-

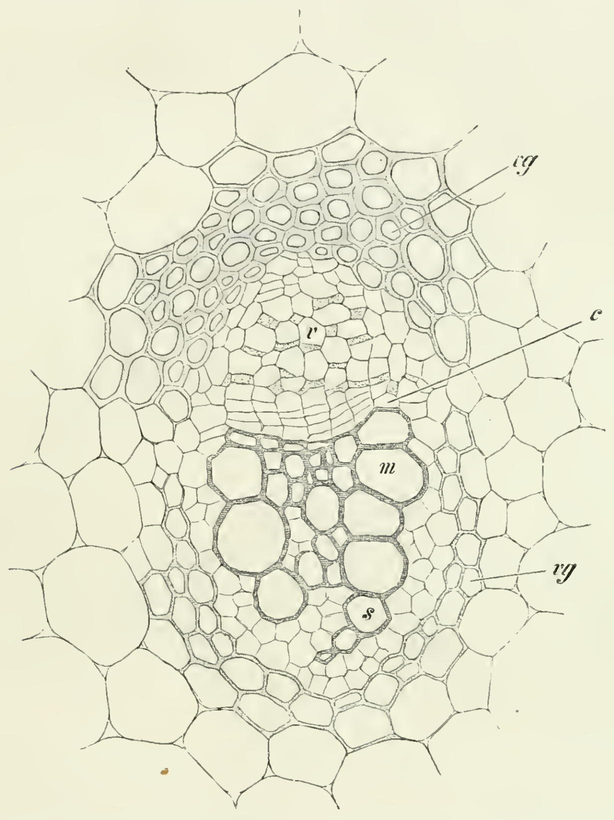


Fig. 116. Querschnitt durch ein Leitbündel aus dem Ausläufer von Ranunculus repens. *s* Schraubengefäßtracheïden; *m* behöft getüpfelte Gefäße; *c* Kambium; *v* Siebröhren; *vg* Scheide. Vergr. 250.

stehen aus Zellen, die schwächer verdickt und nur schwach verholzt oder ganz unverholzt sind und daher besonders scharf in Präparaten hervortreten, die in Chlorzinkjodlösung untersucht werden. — An radialen Längsschnitten durch den Ausläufer, die ein Leitbündel richtig trafen, sehen wir in diesem, von innen nach außen fortschreitend: die engen Ring- und Schraubentracheïden, dann die getüpfelten Gefäße, dazwischen gestrecktes Vasalparenchym, dann die dünnwandigen Kambiumzellen, die Siebröhren und Geleitzellen und an beiden Rändern die sklerenchymatischen Scheidenelemente. Haben wir unseren Längsschnitt in Chlorzinkjodlösung eingelegt, so fallen uns in den Siebröhren weinrote Körner auf. Es sind das Stärkekörner,

die Amylodextrin enthalten, und an denen sich die Siebröhren dieser Pflanze auffallend reich zeigen.

An den in Chlorzinkjod eingelegten Querschnitten läßt sich auch feststellen, daß die an das Leitbündel anschließende Grundgewebeschicht, meist auch noch einige Zellen der darauf folgenden, durch die Jodlösung dunkel gefärbte Stärkekörner in größerer Zahl führen (in Fig. 116 weggelassen). Hat man Stengel vom scharfen Hahnenfuß, Ranunculus acer, zur Hand, so wird man bei ebenfalls in Jodlösung eingelegten Querschnittpräparaten an den Flanken der im Bau mit dem von Ranunculus repens übereinstimmenden Leitbündel entweder nur je eine oder 2—3 Zellen des anstoßenden Grundgewebes mit Stärke versehen finden (Fig. 117 *s*). Diese Stärkekörner sind leicht beweglich und sollen als „Statolithen" fungieren, indem sie bei Veränderung der normalen Gleichgewichtslage des Stengels auf die jeweils nach unten gekehrten Plasmahäute hinsinken, wobei der dadurch ausgeübte neue und ungewohnte Reiz die geotropische Reizbewegung auslöst, die den Stengel in die Gleichgewichtslage zurückführt. Bei den Wurzeln sind es die in den Wurzelhaubenzellen verteilten Stärkekörner, welchen Statolithenfunktion zugeschrieben wird [1]).

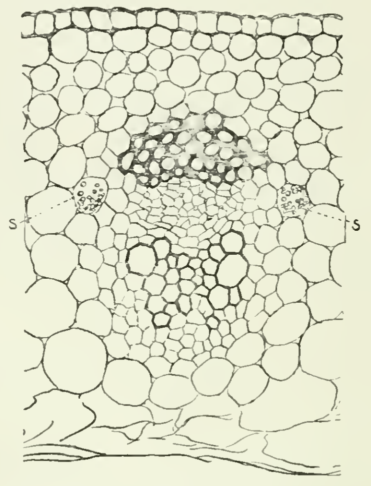


Fig. 117. Querschnitt durch ein Leitbündel des Stengels von Ranunculus acer. Seitlich, im angrenzenden Grundgewebe je eine „Statolithenstärke" führende Zelle *s*. Vergr. 180.

Das Leitbündel vom Schöllkraut, Chelidonium majus, ist so ähnlich dem von Ranunculus repens gebaut, daß der Querschnitt ohne weiteres verständlich wird. Untersuchen wir Alkoholmaterial, so bemerken wir aber im Siebteil des Leitbündels Zellen mit dunkelbraunem Inhalt, ebenso an der inneren Grenze des Gefäßteils, sodann besonders zahlreich an den Flanken und an dem Außenrand des Sklerenchymstrangs, der den Siebteil des Leitbündels deckt, ja vereinzelt auch im Grundgewebe zwischen den Leitbündeln. Dieser Inhalt rührt von dem in Alkohol geronnenen, orangeroten Milchsaft von Chelidonium her. Die betreffenden Elemente sind Milchgefäße (gegliederte Milchröhren); sie fallen so in die Augen, daß man sie nicht übersehen kann. Sie sind alle dünnwandig, selbst jene, die in den Außenrand des Sklerenchymstrangs eingeschaltet sind. — Auf Längsschnitten erkennt man sie sofort an ihrem gelbbraunen Inhalt wieder. Sie erweisen sich dann als lange, zur Längsachse des Stengels annähernd parallel verlaufende Röhren. Man stellt unschwer das Vorhandensein von Querwänden in diesen Röhren fest. Diese Querwände sind in der Mitte mehr oder weniger deutlich von einer oder mehreren Poren durchbrochen; sie fehlen auch hin und wieder

[1]) G. HABERLANDT, Physiol. Pflanzenanatomie, 5. Aufl., 1918, S. 555. Dort auch die näh. Literaturangaben. S. a. H. v. GUTTENBERG, Die Naturwissenschaften, Bd. VIII, 1920, S. 571 und den XVII. Abschn. dieses Praktikums.

an Stellen, wo man sie erwarten müßte, weil sie vollständig aufgelöst wurden. Nach einer seitlichen Verbindung der Milchgefäße untereinander würde man bei Chelidonium vergeblich suchen[1]).

Bestimmte Familien der Dikotylen sind mit bikollateralen Leitbündeln in ihren Stengelteilen ausgerüstet, die ihrer Entwicklungsgeschichte nach als einheitliche Bündel aufgefaßt werden[2]). Wir wollen uns über den Bau eines solchen bei Cucurbitaceen und zwar bei Cucurbita Pepo zu unterrichten suchen. Wie die meisten Kletterpflanzen ist auch Cucurbita Pepo durch die Weite ihrer Gefäße ausgezeichnet. Außerdem besitzt sie sehr weite Siebröhren. Wie ein Querschnitt durch den Stengel uns sofort zeigt, sind die Leitbündel in zwei Ringen angeordnet. Jeder Ring zählt fünf Leitbündel, und zwar zeichnen sich die des inneren Rings durch kräftigere Entwicklung aus. Das Mark ist ausgehöhlt. Die chlorophyllhaltige primäre Rinde schließt gegen den Zentralzylinder mit einer stärkereichen Zellschicht, der Stärkescheide, ab, auf die ein die inneren Teile schützender Zylinder aus Sklerenchymfasern folgt. Bei Zusatz von Jodjodkaliumlösung tritt die Stärkescheide durch die blaue Färbung ihrer Stärkeeinschlüsse, und der Sklerenchymzylinder durch die dunklere Färbung der Sklerenchymfasern hervor. Der bikollaterale Bau der einzelnen Leitbündel wird durch das Vorhandensein eines äußeren und eines inneren Siebteils bedingt. Um ein äußeres Leitbündel näher zu studieren, benutzen wir Querschnitte, die nicht zu nahe der Stengelspitze, mindestens in einem halben Meter Entfernung von ihr, ausgeführt wurden. Dort erst sind die Gefäße fertiggestellt. Auch wählen wir ein Leitbündel, an dem die beiden besonders in die Augen fallenden, ungewöhnlich weiten Gefäße möglichst gleichmäßig ausgebildet sind. Sehen wir zunächst von dem inneren Siebteil ab, so treten uns am Innenrand des Gefäßteils zerdrückte Vasalprimanen entgegen, in dünnwandigem, unverholztem, unter Umständen chlorophyllhaltigem Vasalparenchym verteilt. Es folgen nach außen, an Weite zunehmend, ringförmig und schraubenförmig verdickte Gefäßtracheïden, dann Schraubengefäße mit engen Windungen, dann in der Mitte des Leitbündels z. T. sehr enge Tüpfelgefäße. Die beiden großen Gefäße an den Flanken des Leitbündels sind behöft getüpfelt und von flachen Vasalparenchymzellen umgeben. Vasalparenchym umgibt auch die zentrale Gruppe der engen Tüpfelgefäße. An das Vasalparenchym des Gefäßteils grenzen nach außen die radial angeordneten Zellreihen des Kambiums. Diese gehen in die Elemente des tätigen Siebteils über. Letzterer besteht aus weiten, von je einer, seltener von zwei Geleitzellen begleiteten Siebröhren; außerdem führt er aber auch noch Siebteil- oder Kribralparenchym. Dieses Kribralparenchym nimmt nach der Peripherie hin an Menge zu, und wir finden dort in ihm die an der stärkeren Lichtbrechung kenntlichen Kribralprimanen. — Der an den Innenrand des Gefäßteils anschließende Siebteil ist ebenso wie jener des Außenrandes gebaut, nur entgegengesetzt orientiert. Er umfaßt mondsichelförmig den Innenrand des Gefäßteils. Dünnwandiges, radial angeordnetes, stärkeführendes Parenchym trennt ihn davon. Als Kambium ist aber dieses Parenchym nicht zu bezeichnen, da es seine Teilungsfähigkeit bereits eingebüßt hat und in den Dauerzustand getreten ist. Gegen das umgebende

[1]) Über die funktionelle Bedeutung der Siebröhren bzw. Siebgefäße vgl. u. a. C. Simon, Beih. z. bot. Zentralbl., 1. Abt., Bd. XXXV, 1918, S. 183 ff.

[2]) F. C. v. Faber, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXII, 1904, S. 296.

Grundgewebe scheint das Leitbündel nicht scharf abgesetzt. — Behandelt man die Schnitte mit Korallin-Soda, so treten stellenweise in den Siebröhren leuchtend rot gefärbt die Siebplatten hervor. — Radiale Längsschnitte durch den Stengel, die ein Leitbündel entsprechend getroffen haben, zeigen uns die Tracheïden und Gefäße mit ihrer charakteristischen Verdickung. Es wird auffallen, daß die beiden weiten Gefäße aus sehr kurzen Gliedern aufgebaut sind. Jedes ihrer Glieder ist tonnenförmig angeschwollen. Die Vasalparenchymzellen an den weiten Gefäßen sind kurz, durch ebensoviel Tüpfel, wie das Gefäß sie aufweist, mit ihm verbunden. Diese Tüpfel sind innerhalb des Gefäßes behöft, in der Vasalparenchymzelle unbehöft.

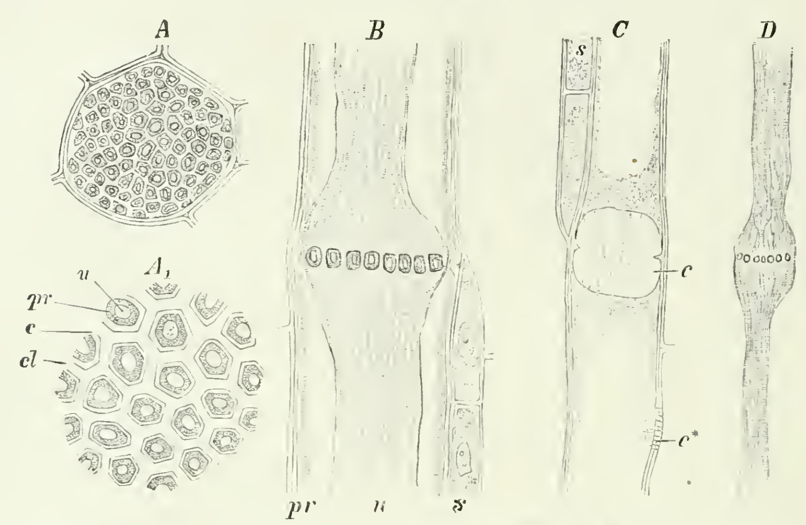


Fig. 118. Cucurbita Pepo. Teile von Siebröhren aus Alkohol-Material. A und A_1 im Querschnitt, B bis D im Längsschnitt. A eine Siebplatte von oben. A_1 ein Teil von dieser, stärker vergrößert und etwas schematisiert. B und C zwei anstoßende Siebröhrenglieder von der Seite. D die verbundenen Inhaltsmassen zweier Siebröhrenglieder nach Schwefelsäure-Behandlung. *s* Geleitzellen, *u* Schleimstrang, *pr* Protoplasmaschlauch, *c* Kallus bzw. Kallusplatte, *c** kleines, seitenständiges Siebfeld mit Kallusplatte, *cl* Siebplatte. Vergr. 540, außer der stärker vergr. Fig. A_1.

Zu beiden Seiten des Gefäßteils können wir jetzt am Längsschnitt die überaus weiten Siebröhren bequem studieren[1]); doch wollen wir hierzu Alkohol-Material benutzen. Es sind kontinuierlich fortlaufende Schläuche, deren aufeinanderfolgende Glieder durch die Siebplatten getrennt sind. Wir erleichtern uns wieder unsere Aufgabe, indem wir die Längsschnitte für kurze Zeit in Anilinblau[2]) legen und hierauf in Glyzerin unter-

[1]) Vgl. hierzu vornehmlich A. de Bary, Vgl. Anat., 1877, S. 179; K. Wilhelm, Beitr. zur Kenntnis des Siebröhren-Apparates dikotyler Pflanzen, 1880; E. v. Janczewski, Mem. Soc. d. sc. nat. Cherbourg, T. XXIII, 1881; E. Russow, Sitzber. Dorpat. naturf. Gesellsch., Jahrg. 1881 u. 1882; A. Fischer, Unters. über d. Siebröhren-System d. Cucurbitaceen, 1884; E. Strasburger, Leitungsbahnen, 1891, S. 286; A. F. Hemenway, Bot. Gaz., Vol. LV, 1913, S. 236; E. W. Schmidt, Bau und Funktion der Siebröhre der Angiospermen. Jena 1917. Schließlich A. Zimmermann, Die Cucurbitaceen, Jena 1922, H. 1, S. 39 ff.

[2]) E. Russow, Sitzber. d. Dorp. naturf. Gesellsch., 1881, S. 63. Vgl. auch A. Zimmermann, Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. XL, 1922, S. 4, und Derselbe, l. c. 1922, H. 1, S. 39, 40; ferner Reg. IV Siebröhren-Färbung.

suchen. Nach längerem Verweilen in diesem haben sich die Zellwände mehr oder weniger vollständig entfärbt, während der Inhalt der Siebröhrenglieder den Farbstoff zurückhielt. Man kann den Inhalt der Siebröhren auch mit dem u. a. auf die Gegenwart von Eiweißstoffen hinweisenden Para-Benzochinon sehr schön dunkel-rotbraun färben[1]). Ebenfalls läßt sich durch Anwendung der Senftschen Methode Maltose in ihm nachweisen, die sich durch Auftreten charakteristischer zitronengelber Kristallmassen zu erkennen gibt[2]). Die Siebplatten sind quer gestellt, erscheinen an Alkohol-Material meist von einer stark lichtbrechenden Substanz überzogen und zeigen dementsprechend eine nicht unbedeutende Dicke (Fig. 118 *B*). Durch diese Eigenschaften fallen sie uns schon bei schwacher Vergrößerung auf. In dem mit Anilinblau behandelten Präparat sind diese Siebplatten rein blau gefärbt.

Der Inhalt der aktiven Siebröhren besteht aus einem hohlen, sackartigen Protoplasten (*pr*); dieser steht in direkter Verbindung mit den Protoplasten benachbarter Siebröhren, in vertikaler Richtung durch Vermittlung der weiten Poren in den Siebplatten und seitlich durch feinere Verbindungsfäden oder -stränge und gelegentlich auch durch laterale Siebplatten (Siebfelder)[3]). Er ist äußerst zart, haftet an den meisten Stellen der Siebröhrenwandung an und führt, wie man an entsprechend fixierten und gefärbtem Material erkennen kann, einen Zellkern[4]). Der Protoplast schließt einen axialen Schleimstrang (*u*) ein. Dieser geht durch die mit Auflösung der Schließhäute entstandenen Poren der Siebplatten von einem Siebröhrenglied zum anderen. Doch kommen diese Schleimstränge nicht in Berührung mit der Zellwand, sind vielmehr in Plasmazylindern eingeschlossen, die mit ihnen die Öffnungen der Siebplatten passieren[5]). Im Lauf der Zeit wird die Membran der Siebplatten an ihrer ganzen, auch der in die Siebporen hineinreichenden Oberfläche mit Kallose bedeckt (Fig. 118 *A*). Je älter die Siebröhren sind, die wir untersuchen, desto stärker zeigt sich der Kallusbelag auf beiden Seiten der Siebplatten sowohl, wie in deren Poren entwickelt. Dabei werden die Siebporen außerordentlich verengt, doch lassen sich bei scharfer Beobachtung punktierte Linien, die feinen Verbindungskanäle, erkennen (Fig. 118 *C*), in denen jetzt mehr oder minder unterbrochene Schleimfadenreste stecken[6]). Die Kallusplatten treten durch ihren starken Lichtglanz in den Präparaten deutlich hervor und zeigen sich in den mit Anilinblau behandelten Schnitten himmelblau gefärbt. Wie zuvor im Querschnitt, so fallen sie uns auch hier an dem äußeren und inneren Rand des Leitbündels auf.

Wo zwei Siebröhren seitlich aneinanderstoßen, sind kleine Siebtüpfelkomplexe (Siebfelder) an der gemeinsamen Seitenwand zu sehen. Auch diese erhalten später eine einseitige (*c**) oder beiderseitige Kallusplatte

---

[1]) M. Raciborski, Bull. Acad. d. sc. de Cracovie, 2. Juli 1906, S. 555.

[2]) Vgl. die Angaben von S. Mangham, l. c. 1911 auf S. 180 dieses Praktikums.

[3]) Die Bezeichnung „Siebfelder“ will A. W. Hill, Ann. of Bot., Bd. XXII, 1908, S. 251, Fußnote 6 und S. 265 ff., nur auf die lateralen Gruppen der Verbindungsfäden oder -stränge in den Siebröhrenwänden angewandt wissen.

[4]) Vgl. E. W. Schmidt, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXI, 1913, S. 78, und Derselbe, l. c. 1917, S. 53. Vgl. a. Reg. IV Siebröhren-Inhalt. — In bezug auf die Entwicklungsgeschichte dieser Bildungen bestehen zwischen den Angaben von Hill und Schmidt Abweichungen. Vgl. dazu E. W. Schmidt, l. c. 1917, S. 23 ff.

[5]) Nach A. W. Hill. l. c. 1908, S. 273. E. W. Schmidt, l. c. 1917, S. 20 ff., neigt mehr dazu, die Plasmabrücken für massiv zu halten.

[6]) Vgl. A. W. Hill, l. c. 1908, S. 273.

und werden hierdurch auffallender. — Neben den Siebröhren laufen die engen Geleitzellen; sie sind viel kürzer, so daß vier und mehr der Länge eines Siebröhrengliedes entsprechen. Die Entwicklungsgeschichte lehrt, daß eine Geleitzell-Initiale als Schwesterzelle eines Siebröhrengliedes entsteht, dann durch wiederholte Querteilung in eine größere Zahl übereinanderliegender Geleitzellen zerlegt wird. Sie führen reichen, plasmatischen Inhalt, einen großen Zellkern, ferner Chromatophoren und sind durch quergedehnte Poren mit ihrem Siebröhrenglied verbunden. Die Geleitzellen der aufeinanderfolgenden Siebröhrenglieder treffen vielfach nicht aufeinander. Zwischen den Siebröhren und Geleitzellen läuft gestrecktes, dünnwandiges dicht aneinanderschließendes Kribralparenchym.

Nicht uninteressant ist es, einen geeigneten Längsschnitt, den man aus dem Stengel von Cucurbita, und zwar aus Alkoholmaterial, gewann, mit konz. Schwefelsäure zu behandeln. Die Wände der Siebröhren und die Siebplatten werden aufgelöst, die Schleimstränge älterer Siebröhren bleiben hingegen erhalten, und man bekommt von ihnen Bilder, wie sie unsere Fig. 118 *D* zeigt. So führen derartige Präparate in ausgezeichneter Weise die Perforation der Siebplatte und die Verbindung vor, die zwischen aufeinanderfolgenden Siebröhrengliedern besteht. Man kann solche Präparate auswaschen, indem man an dem einen Rand des Deckglases Wasser zusetzt und es an dem anderen mit Fließpapier aufsaugt. Den Schleimstrang kann man weiterhin mit einem Tropfen Anilinblau färben. — Umgekehrt lassen sich aus den Präparaten — und zwar wählt man dabei am besten dünne Querschnitte — die Protoplasten, die Schleim- und Kallusmassen entfernen, wenn wir sie für 10 Min. in ein Uhrgläschen mit ein wenig Eau de Javelle legen. Die in Wasser vorsichtig ausgewaschenen Schnitte untersucht man am besten in Glyzerin.

Über die Verteilung des Inhalts in den Siebröhren und über diesen selbst kann man sich schließlich an Material orientieren, das mit kochendem Wasser fixiert wurde. Man wählt dabei, um Dislokationen in dem Siebröhren-Inhalt zu vermeiden, unverletzte Sprosse, die somit noch mit der Mutterpflanze in Verbindung stehen; sie werden durch etwa 5 Min. langes Eintauchen in siedendes Wasser abgetötet[1]. So fixiertes Material läßt sich entweder sofort untersuchen oder auch in Alkohol ohne weitere Veränderung beliebig lange aufbewahren. — Befriedigende Resultate lassen sich auch erlangen, wenn man an der Pflanze selbst den betreffenden Sproßteil durch Abschaben von seiner epidermalen Schicht befreit, einen Glaszylinder über die so präparierte Stelle schiebt, diesen am unteren Ende mit Hilfe von zwei halbrunden Korkstückchen und Wachs dicht verschließt und dann in den Zylinder eine Fixierungsflüssigkeit, z. B. Flemmingsches Gemisch, gießt. Oben schließt man den Zylinder ebenfalls mit zwei halbrunden Korkstückchen und Wachs. Nach 24—48 Stunden erscheinen die Siebröhren gut fixiert[2].

Im allgemeinen pflegt der Inhalt tätiger Siebröhren weit dünnflüssiger als bei den Cucurbitaceen zu sein und vermag dann nicht in zusammenhängenden Massen zu koagulieren. In dem Wandbeleg der Siebröhren lassen sich meist kleine farblose Leukoplasten nachweisen, die in den meisten Fällen äußerst kleine, sich mit Jodlösungen weinrot färbende, amylo-

---

[1]) Vgl. A. Fischer, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. III, 1885, S. 230, und Derselbe, Neue Beitr. zur Kenntnis der Siebröhren, 1886, S. 5 ff.

[2]) Nach E. W. Schmidt, l. c. 1917, S. 46.

dextrinreiche Stärkekörner erzeugen. Frisch untersuchte Siebröhren zeigen den Inhalt der Glieder an den Siebplatten einseitig angesammelt, dort evtl. auch die Stärkekörner angehäuft.

Die Kallose[1]) stellt einen in seiner chemischen Zusammensetzung noch unbekannten Stoff dar, der bisher mit Sicherheit nur in den Siebröhren der Pflanzen gefunden worden ist. Sie ist unlöslich in Kupferoxydammoniak, leicht löslich in 1-proz. Natronlauge, in Kalilauge, löslich in Schwefelsäure, in Chromsäure, Kalziumchlorid, in Eau de Javelle[2]), konz. Zinnchlorid; sie quillt in Chloralhydrat, Chloraljod, Chlorzinkjod, verdünnter Salpetersäure und ist unlöslich in kalten Alkalikarbonaten. Chlorzinkjod färbt die Kallose rotbraun, Jodjodkali gelb bis braun-gelb. Die Farbstoffe, die der Kallose charakteristische Färbungen erteilen sollen, sind vor allem Korallin, Resoblau, Anilinblau und „Brillantlackblau G extra" der Farbenfabriken vorm. *Friedr. Bayer & Co.*, Leverkusen bei Köln. Letzteres zeigt den Vorteil, daß es von den Membranstoffen ausschließlich die Kallose färbt. Es empfiehlt sich, eine der zu benutzenden blauen Farben mit einem sauren, braunen Farbstoff, etwa Bismarckbraun (Vesuvin, brun d'aniline) zu vermischen. Dieses Farbengemisch soll stets in saurem Bad, so in 3-proz. Essigsäure oder 3-proz. Ameisensäure, angewandt werden. Es werden alsdann braun gefärbt die stickstoffhaltigen Substanzen und die Kutikula, leuchtend grünlich-blau die Kallose. Die Färbung ist nach wenigen Minuten vollzogen, und die Präparate behalten in wässr. Glyzerin monatelang ihre Farbe. — Eosin soll alle Membranstoffe mit Ausnahme der Kallose färben.

Schneller als die meist zum Nachweis von Kallose verwendeten Farbstoffe Anilinblau und Korallin wirkt das vorher ebenfalls angegebene Resoblau[3]). In Schnitten (z. B. von Kürbisstengeln), die mit Resoblau behandelt werden, bleiben die Zellulosemembranen ungefärbt, die Kallose der Siebröhren jedoch und die verholzten Membranen nehmen den Farbstoff mehr oder weniger begierig auf, und zwar die Kallose schon noch Einwirkung von 30—60 Sek. Dauer, wobei die verholzten Teile noch ungefärbt erscheinen. Diese nehmen erst nach längerer Wirkung des Resoblaus die Farbe an. Auch die protoplasmatischen Inhaltsbestandteile, besonders die Kerne, färben sich, aber schwächer. In Verbindung mit anderen Farbstoffen lassen sich sehr schöne Doppelfärbungen erzielen. So kann man mit Kongorot 0,2 T. auf 100 T. Resoblau ein haltbares Gemisch herstellen, das die Zellulose rot, die Kallose der Siebröhren blau färbt. Eosin mit Resoblau in Lösung, die ebenfalls haltbar ist, färbt den Siebröhreninhalt rosa, den Kallus blau. Zur Dreifachfärbung ist besonders zu empfehlen das Réactif genevois (leicht ammoniakalische Lösung von Chrysoidin und Kongorot, s. Reg. IV), in dem die Schnitte 1 Min. bleiben, um dann für $^1/_2$ Min. in Resoblau überführt zu werden. Es zeigt sich dann in den

[1]) L. Mangin, Compt. rend. Acad. Paris, 24. März u. 15. Dez. 1890; Bull. soc. bot. de France, Bd. XXXVIII, 10. April u. 8. Mai 1891 u. Bd. XXXIX, 24. Juni 1892; schließlich in Compt. rend. Acad. Paris, 25. Juli 1910, Bd. CLI, S. 279, worin Mangin u. a. auf die Angaben von C. van Wisselingh, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXI, 1898, S. 676 ff., eingeht, der die von Mangin empfohlenen Farbenreaktionen auf Kallose bzw. Pektinstoffe für zu unsicher hält. Vgl. im übrig. E. W. Schmidt, l. c. 1917 und Reg. IV Kallose.

[2]) A. Meyer, Erstes Mikrosk. Praktikum, 3. Aufl., Jena 1915, S. 80, 216.

[3]) Von Tsvett, Compt. rend. Acad. Paris, Bd. CLIII, 1911, S. 503. Über die Herstellung des Resoblau vgl. Reg. IV.

Schnitten die Zellulose rot, Holz, Bast, Kutikula gelb, Kallose blau. Auch Safranin läßt sich gut verwenden, indem man es zuerst auf die Schnitte einwirken läßt, gut auswäscht und dann Resoblau dem Präparat zufügt. Die Färbungen mit Resoblau halten sich nicht in Glyzerin. Sie sind bis zu 6 Monaten haltbar in einer konz. Lösung von Kaliumazetat und der Hoyerschen Flüssigkeit (Gummi arabicum in Kaliumazetat, vgl. a. S. 125), ferner in Kanadabalsam. An Stelle des Resoblaus kann man zur Not auch das mit ihm identische „Lakmoid" des Handels verwenden, und zwar 0,5 T. auf 100 T. mit Ammoniak oder Borax versetztem Wasser. Doch sind die Färbungen, die man hiermit erhält, weniger scharf und die Lösung verliert nach einigen Tagen ihr Tinktionsvermögen.

In den Siebröhren, doch auch in anderen Gewebeelementen, so in Milchröhren und selbst verschiedenen Parenchymen, ferner im Sekret der Wurzelhaare und jungen Wurzeln findet sich ein eigenartiger oxydierender Körper, der als Leptomin bezeichnet wurde[1]). Das Leptomin stellt im trockenen Zustand ein amorphes, weißes Pulver dar. Es wird durch verd. Alkalien (Ammoniak, Kalkwasser) nicht angegriffen, jedoch durch verd. Essig- oder Pikrinsäure zerstört. In Wasser und Glyzerin ist es löslich, in Alkohol unlöslich. In Lösung wird es durch kurzes Erwärmen zerstört. Bei Gegenwart von Leptomin wird eine Lösung von Guajakharz mit Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd ebenso gebläut, wie bei Gegenwart von Hämoglobin oder Hämozyanin, ferner von Eisen-, Kupfer-, Mangan- und Chromsalzen[2]). Sowohl durch ein Übermaß von Alk. abs., wie durch verschiedene andere Körper, im besonderen durch Salze von Schwermetallen, wird das Leptomin aus den Pflanzensäften niedergeschlagen. Bleiazetat oder Quecksilbernitrat geben einen reichlichen Niederschlag, der neben dem Leptomin natürlich noch Albuminoide und andere Körper enthält. Zur Gewinnung des Leptomins wird der Bleiazetat- oder Quecksilbernitrat-Niederschlag mit Schwefelwasserstoff vom Metall befreit, abfiltriert, das Filtrat mit Luft vom Schwefelwasserstoff befreit, vorsichtig mit Natronkarbonat neutralisiert und mit Alkohol niedergeschlagen. Nach wiederholtem Auflösen in Wasser erhält man ein weißes Pulver, das mit Guajak-Wasserstoffsuperoxyd die Leptominreaktion zeigt. — Mit Hilfe dieser letzten Reaktion sind unregelmäßig gelegene, außerhalb der Leitbündel verlaufende Siebröhren bald zu entdecken. Die Leptominreaktion verschwindet mit dem Alter und der zunehmenden Obliteration der Siebröhren. Sie bleibt übrigens auch sonst unter Umständen aus[3]), was auf das Vorhandensein von Stoffen zurückgeführt wird, die dem Oxydationsvorgang entgegenwirken, wie z. B. Gerbstoffe. Wird der Gerbstoff aus Korkgeweben, die nach Raciborski keine Leptominreaktion geben, durch 80-proz. Alkohol ausgezogen, so gelingt der Nachweis. Auch durch die Gegenwart von Glykosen wird das Eintreten einer deutlichen Leptominreaktion mehr oder weniger verhindert.

Will man mikroskopische Untersuchungen über die Lokalisation des Leptomins im Pflanzenkörper anstellen, so benutze man in Alkohol fixiertes und aufbewahrtes Material. Das in Alkohol unlösliche Leptomin bildet am Ort seines Vorkommens Niederschläge, welche nachträglich die

[1]) M. Raciborski, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XVI, 1898, S. 52 u. 119; ferner Bull. Acad. d. sc. de Cracovie. Math.-Nat. Kl. Jan. 1902. S. a. E. W. Schmidt, l. c. 1917, S. 69 ff. und Fr. Czapek, Biochemie der Pflanzen, 2. Aufl., III. Bd., 1921, bzw. 3. Aufl. 1922.

[2]) T. Porodko, Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. XVI, 1904, S. 1.

[3]) F. W. T. Hunger, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XIX, 1901, S. 374.

farbigen Reaktionen liefern. Die Fixierung im Alkohol geschieht am besten unter der Luftpumpe, da der Alkohol so schneller in die Objekte eindringt und die Diffusion des Leptomins aus den Zellen in die Umgebung verhindert. Die besten Ergebnisse erhält man, wenn man die Schnitte in eine alhohol., mit ein wenig Wasserstoffsuperoxyd versetzte α-Naphtollösung bringt. Nach Eintritt der dunkelvioletten Farbreaktion in den leptominhaltigen Zellen, die sehr schnell erfolgt, müssen die Präparate sofort mit Alk. abs. ausgewaschen und in Glyzerin eingeschlossen werden, worin sich die Färbung hält, während sie nach Überführen in Xylol und Kanadabalsam allmählich verblassen würde[1]).

Die Siebröhren führen im übrigen hauptsächlich Eiweißstoffe, daneben aber häufig auch Kohlenhydrate; sie dienen anscheinend der Leitung beider Stoffe[2]).

Ein außerordentlich günstiges Objekt für das Studium des Dickenwachstums der Dikotylen ist Aristolochia Sipho[3]). Untersuchungsmaterial dürfte leicht zu beschaffen sein. Es empfiehlt sich, es im Juni zu sammeln und, falls es nicht gleich untersucht werden kann, in Alkohol einzulegen. — Wir stellen uns Querschnitte durch einen 3—4 mm dicken Zweig her, und zwar in annähernd halber Höhe eines Internodiums. Ein solcher Querschnitt (Fig. 119). mit der Lupe betrachtet, läßt ein inneres lockeres Mark (*m*), um dieses einen Kranz getrennter Leitbündel (*fv*). um diesen weiter einen zusammenhängenden, weißen Ring (*sk*), dann grünes Rindengewebe (*c*) und endlich eine gelblichgrüne, peripherische Hülle (*cl*) erkennen. Bei schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop stellen wir fest, dåß das Mark aus runden, großen, zum Teil lufterfüllten Zellen besteht. Im Leitbündel erscheint der Gefäßteil (*vl*) dunkler, durchsetzt von den großen Hohlräumen der Gefäße. Es folgt die Kambiumzone (*fc*), gebildet von

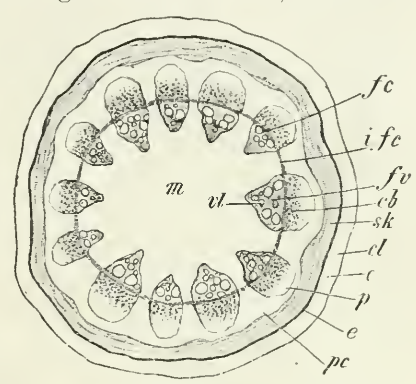


Fig. 119. Querschnitt du ch einen 5 mm dicken Zweig von Aristolochia Sipho. *m* Mark, *fv* Leitbündel, und zwar *vl* Gefäßteil, *cb* Siebteil, *fc* Faszikularkambium, *ifc* Interfaszikularkambium, *p* Kribralparenchym an der Außenseite des Siebteils, das den Übergang zum Grundgewebe vermittelt, *pc* Perizykel, *sk* Sklerenchymring, *e* Stärkescheide, *c* grüne Rinde, *cl* Kollenchym. Vergr. 9.

---

[1]) M. Raciborski, Flora, Bd. LXXXV, 1898, S. 363.

[2]) Vgl. u. a. die Darstellung in L. Jost, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, 3. Aufl., Jena 1913, S. 221 ff. Im übrigen s. A. Meyer, Erstes mikrosk. Prakt., 3. Aufl., 1915, S. 215. Dazu noch J. Peklo, Sitzber. K. böhm. Ges. d. Wiss., Math.-Nat. Kl., Prag, XXII, 1907, bzw. 1908, der mit Hilfe der Senft schen Methode (vgl. S. 180) nachwies, daß in den Zuckerrüben die Siebröhren hauptsächlich der Saccharose-Leitung und -Speicherung dienen, und S. Mangham, l. c. 1911 (s. a. S. 247 dieses Prakt.), der ebenfalls mit der Senft schen Methode Maltose in tätigen Siebröhren nachwies. Ferner sind hierbei noch die Angaben von M. Molliard, Compt. rend. Acad. Paris, 13. Mai 1907, von Interesse, denen zufolge Pflanzen, die in saccharose- oder glykosehaltiger Nährlösung gezogen wurden, eine starke Vermehrung der Siebröhrenzahl aufwiesen. S. a. E. W. Schmidt, l. c. 1917, S. 85 ff.

[3]) E. Strasburger, Leitungsbahnen, 1891, S. 256; H. C. Schellenberg, Festschrift für Schwendener, 1899, S. 301.

schmalen, radial angeordneten, hellen Zellen, und hierauf der Siebteil (*cb*), der sich etwas weniger hell zeichnet und auch nicht die regelmäßige Anordnung wie die Kambiumzone zeigt, und der nach außen von einem Beleg heller, inhaltsarmer Grundgewebezellen begleitet wird. Dieser Beleg setzt sich besonders bei schwacher Vergrößerung und etwas dickeren Schnitten durch hellere Färbung gegen das umgebende, etwas Chlorophyll führende Gewebe ab. Der weiße,

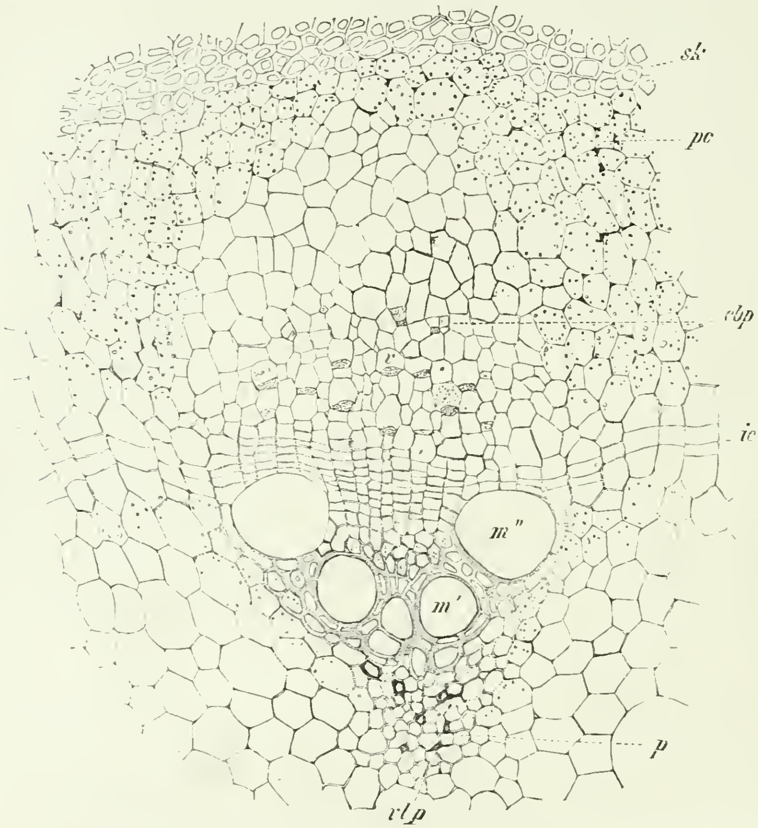


Fig. 120. Querschnitt durch einen erstjährigen, jungen Zweig von Aristolochia Sipho, ein Leitbündel nach begonnener Kambiumtätigkeit zeigend. *p* Vasalparenchym an dem Innenrand des Gefäßteils, *vlp* Vasalprimanen, *m'* und *m''* behöft getüpfelte Gefäße, *ic* Interfaszikularkambium, an das Faszikularkambium, d. h. das Kambium im Innern der Leitbündel, seitlich anschließend, *v* Siebröhre, *cbp* Kribralprimanen, *pc* Gewebe des Perizykels, *sk* innerer Teil des Rings aus Sklerenchymfasern. Vergr. 130.

nunmehr anschließende Ring wird von stark verdickten Sklerenchymzellen gebildet; zwischen den Leitbündeln springt er etwas nach innen vor. Auf den Ring folgt nach außen chlorophyllhaltiges Gewebe, dessen innerste, an den Sklerenchymring grenzende Schicht sich durch Stärkereichtum auszeichnet und als Stärkescheide bezeichnet wird. Solche Stärkescheiden entsprechen der Endodermis der Wurzel und geben die innere Grenze der primären Rinde an. Der Sklerenchymring liegt somit schon im Zentralzylinder des Stammes, und zwar

in dessen peripherischer Zone, in dem Perizykel (*pc*), zu dem auch noch das parenchymatische Gewebe bis zum Außenrand der Leitbündel zu rechnen ist[1]). An das innere, chlorophyllhaltige Gewebe der primären Rinde grenzen englumigere Zellen, mit weißen, in den Ecken stärker verdickten Wänden, die wir an diesem Verhalten als „Kollenchym“ erkennen. An den Kollenchymring schließt die Epidermis an. Der Kollenchymring wird aber durchsetzt von besonders chlorophyllreichen Gewebestreifen, die vom inneren, chlorophyllhaltigen Rindengewebe bis unter die Spaltöffnungen der Epidermis reichen. — Nach dieser allgemeinen Orientierung suchen wir nun festzustellen, wie bei Dikotylen ein geschlossener Kambiumring zustande kommt. Wir betrachten bei stärkerer Vergrößerung zunächst die einzelnen Leitbündel (Fig. 120). Das muß an hinlänglich dünnen Querschnitten geschehen, die wir am besten aus Alkoholmaterial herstellen und in Glyzerin oder in Chlorzinkjodlösung untersuchen. — Die zerdrückten Vasalprimanen (*vlp*) und die zunächst anschließenden Gefäßtracheïden und Gefäße sind in reichlich vertretenem, dünnwandigem Vasalparenchym (*p*) eingeschlossen. Weiter nach außen nehmen in dem breiter werdenden Leitbündel die Gefäße an Durchmesser zu. Diese Gefäße (*m'* und *m''*) sind behöft getüpfelt. Zwischen ihnen verdickt das Gewebe seine Wände. Es besteht aus Vasalparenchym und engen Tracheïden. Die nun folgende Kambiumzone zeigt ihre dünnwandigen, flachen Zellen in geraden Reihen angeordnet. Dieses Gewebe ist in voller Tätigkeit, und die ihm zunächst liegenden Gefäße (*m''*) sind deutlich noch in der Ausbildung begriffen. Ebenso geht an der Siebteilseite das unfertige Gewebe in fertiges über, doch wird dieser Übergang dort rascher vollzogen. Im Siebteil sehen wir die Siebröhren (*v*) mit ihren Geleitzellen, dazwischen Parenchym, das wir als Siebteilparenchym oder Kribralparenchym dem Vasalparenchym gegenüberstellen können. In der Peripherie des Siebteils wird man im Kribralparenchym eingeschlossene Gruppen von Kribralprimanen (*cbp*) finden, die aus engen Siebröhren und Geleitzellen bestehen. An den tätigen Siebröhren sind die Geleitzellen hier kambiumwärts gelegen; sie fallen durch geringe Weite und reichen Inhalt auf. Kribralparenchym war uns in den bisher untersuchten Leitbündeln nicht entgegengetreten. Es fehlt dem Siebteil der Monokotylen, kommt aber den Dikotylen allgemein zu, so daß die zuvor untersuchten Ranunculaceen ohne Kribralparenchym in dieser Beziehung als Ausnahme gelten müssen. — Ist der Querschnitt einem Zweig entnommen worden, der sich in dem richtigen Entwicklungszustand befindet, so kann man zwischen den Kambien der einzelnen Leitbündel die beginnende Anlage des Interfaszikularkambiums (*ic*) beobachten. In den Zellen, welche die Leitbündel seitlich trennen und demgemäß den primären oder großen Markstrahlen angehören, sieht man tangentiale Scheidewände auftreten und so einen kambialen Streifen entstehen, der die zuvor getrennten Kambien der Leitbündel zu einem geschlossenen Kreise ergänzt. Aus Faszikular- und Interfaszikularkambium ist somit der

---

[1]) Diese Auffassung vertritt auch M. Pitard, Actes soc. Linn., Bordeaux, sér. 6, T. VI, 1901, S. 43 ff. Vgl. im übrigen J. C. Schoute, Die Stelärtheorie, Groningen 1902, auch Jena 1903; dagegen H. Graf zu Solms-Laubach, Bot. Ztg., Jahrg. LXI, 1903, II. Abt., Sp. 37, 147.

Kambiumring gebildet, mit dem im allgemeinen die Dikotylen und auch die Gymnospermen in die Dicke wachsen. Das durch die Tätigkeit dieses Kambiumsrings nach innen erzeugte sekundäre Gewebe wird kurzweg als Holz, das nach außen erzeugte als Bast bezeichnet. Eine scharfe Grenze zwischen den primären und den sekundären Geweben ist hier aber nicht zu ziehen. Eine als Leitbündelscheide zu bezeichnende Gewebehülle um die einzelnen Leitbündel fehlt bei Aristolochia. Diese Rolle übernimmt hier der Sklerenchymring, den wir zuvor schon bei schwacher Vergrößerung (Fig. 119 *sk*) sahen, und der als geschlossener Hohlzylinder den ganzen Zentralzylinder umgibt. Dieser Hohlzylinder wird späterhin, bei fortgesetzter Massenzunahme der inneren Gewebe, zersprengt. — Der in halber Höhe einem Internodium entnommene Querschnitt weist zwölf Leitbündel auf; diese Zahl verändert sich infolge von Verschmelzungen in der Nähe der Knoten.

Wir stellen jetzt zarte, radiale Längsschnitte durch denselben Zweig her und suchen uns einen solchen Schnitt aus, der annähernd die Mediane eines Leitbündels getroffen hat. Dieser zeigt am Innenrand des Leitbündels gestrecktes Vasalparenchym, zwischen den Zellen dieses Vasalparenchyms sehr enge, mehr oder weniger zusammengedrückte Ringtracheïden, dann etwas weitere Ringtracheïden, z. T. mit Übergängen zur netzförmigen Verdickung, endlich die weiteren, behöft getüpfelten Gefäße. Zwischen diesen Gefäßen sieht man langgestreckte, an ihren Enden verjüngte, behöft getüpfelte, inhaltsleere Tracheïden und dickwandigeres Vasalparenchym, dessen relativ kurze Zellen mit den Querwänden aufeinanderstoßen, weite unbehöfte Tüpfel besitzen und meist Stärke führen. Die unfertigen Gefäße erscheinen als weite, zylindrische, dünnwandige, durch quere Scheidewände gefächerte Röhren. Die aufeinanderfolgenden Zellen, welche die Röhren bilden, sind mit starkem, zytoplasmatischen Wandbeleg und wandständigem Zellkern versehen. In fortgeschritteneren Gefäßanlagen sind die Querwände gequollen, der protoplasmatische Inhalt hat abgenommen. In den fertigen Gefäßen sind die Querwände bis auf einen schmalen Rand, der als verdickter Ring zurückbleibt, aufgelöst, der protoplasmatische Inhalt verschwunden. Die flachen Zellen der Kambiumzone zeigen reichlichen protoplasmatischen Inhalt. Die Siebplatten der Siebröhren sind tangential geneigt und weisen demgemäß dem Beobachter ihre ganze mit dunkleren, glänzenden Punkten bedeckte Fläche. Die Seitenwände der Siebröhren sind außerdem noch mit kleinen, meist quergestreckten, feinpunktierten Siebtüpfeln bedeckt. In der Peripherie des Siebteils sind bereits Kallusplatten ausgebildet, die als stark lichtbrechende Belege die Siebplatten decken. Auch die kleinen Siebtüpfel an den Seitenwänden erhalten eine Kallusplatte. Neben den Siebröhren fallen die mit Inhalt dicht erfüllten, schmalen Geleitzellen auf. Von dem Ring aus sklerenchymatischen Elementen wird der Siebteil durch die breiteren, etwas gestreckten Parenchymzellen des Grundgewebes getrennt. Die Elemente des Rings sind keine echten Sklerenchymfasern, denn es fehlt ihnen die scharfe Zuspitzung; sie stoßen mit quergestellten Endflächen aufeinander und sind daher auch als Stabzellen von anderen sklerenchymatischen Elementen unterschieden worden. Sie weisen viele kleine, schräge, linksläufige Poren auf und führen protoplasmatischen Inhalt, auch Stärke und Gerbstoff. Die Elemente der Stärkescheide erscheinen relativ kurz; dann folgen die abgerundeten Zellen der chlorophyllhaltigen Innenrinde, an die der Kollenchymring anschließt. Dessen

Zellen sind mehrmals so lang als breit und treffen mit queren Wänden aufeinander. An den Kollenchymring schließt unmittelbar die Epidermis an.

Wir wollen jetzt einen älteren, etwa 10 mm starken Zweig untersuchen. Zunächst durchschneiden wir ihn der Quere nach und betrachten die Schnittfläche mit der Lupe. Das Mark ist durch Zusammenrücken der Leitbündel teilweise zerdrückt und wesentlich verkleinert worden. Die Leitbündel haben durch die Tätigkeit des Kambiums sehr bedeutend an Masse zugenommen. Die primären oder großen Markstrahlen zwischen den Leitbündeln erfuhren eine entsprechende Verlängerung, und neue sekundäre oder kleine Markstrahlen sind durch die Tätigkeit des Kambiums in Holz und Bast eingeschaltet worden. Je nachdem ihre Einschaltung früher oder später erfolgte, reichen sie mehr oder weniger tief in die Holz- und Baststränge hinein und lassen sich als Markstrahlen 2., 3. bis n. Ordnung unterscheiden. — Die Markstrahlen erscheinen, mit der Lupe betrachtet, weißlich, wie das Mark, was durch den Luftgehalt eines Teils ihrer Zellen bedingt ist. Es sind 10—12 primäre Markstrahlen vorhanden. Die Holzstränge haben gelbliche Färbung. Die primären Gefäßteile, die an das Mark grenzen, sind ohne weitlumigere Gefäße. Dann folgen die konzentrischen Ringe des jährlichen Zuwachses, die Jahresringe. Die Weite der Gefäßöffnungen nimmt in den ersten Jahren zu, bis ein bestimmter, weitester Durchmesser erreicht worden ist. Die Grenze der Jahresringe ist deutlich durch die großen Gefäßlumina gekennzeichnet, indem die weitesten Gefäße nur zu Beginn der Entwicklung im Frühling erzeugt werden. Der äußere Teil der Jahresringe enthält keine mit der Lupe unterscheidbaren Gefäße. In dem Maße, als der Holzkörper an Umfang gewinnt, werden immer mehr kleine Markstrahlen in ihn eingeschaltet. Die Einschaltung neuer Markstrahlen erfolgt bei Aristolochia mit größter Regelmäßigkeit. An der äußeren Grenze des Holzkörpers zeichnet sich der Kambiumring als dunkler Kreis. Außerhalb des Kambiumrings sieht man vor den Holzsträngen die bräunlich gefärbten Baststränge liegen. Sie bilden zusammen die Bastzone. Man faßt auch das gesamte, außerhalb des Kambiums gelegene Gewebe bis zur Stammoberfläche als Rinde zusammen, hat aber zwischen primärer Rinde und der sekundären, die vom Kambium aus erzeugt wurde, zu unterscheiden. Die primären Markstrahlen erweitern sich außerhalb der Kambiumzone infolge nachträglichen, durch die Dickenzunahme des Stammes veranlaßten Breitenwachstums. Die Baststränge sind zu einem solchen Breitenwachstum nicht befähigt, erscheinen daher nach außen verschmälert. — Der ursprünglich zusammenhängende Sklerenchymring ist in einzelne, ungleich große, olivgrün gefärbte Stücke zerlegt. Er hat einen bedeutenden Druck auf die inneren Gewebe ausgeübt, bevor es diesen bei anhaltender Tätigkeit des Kambiums gelang, ihn zu sprengen. Die Verkleinerung des Marks und Verengung der primären Markstrahlen war eine Folge dieses Drucks. Wie der Sklerenchymring, so erscheint auch die ursprünglich zusammenhängende, sich noch dunkler olivgrün zeichnende Kollenchymlage jetzt unterbrochen. Den Schutz des Innern übernimmt nunmehr das Periderm, das als braune Scheide die Oberfläche des Stammes deckt und eine deutliche Schichtung zeigt.

Wir untersuchen nunmehr bei stärkerer Vergrößerung den Bau des vorhin geschilderten Stammes von Aristolochia auf zarten Querschnitten. Das Gewebe des Marks finden wir in den inneren Teilen zerdrückt, auch ist ein großer Teil der Zellen tot und lufthaltig. Viele Zellen führen Drusen

von Kalziumoxalat, engere unter Umständen Stärke. Besonders stärkereich erscheint das etwas englumigere Gewebe in der Peripherie des Marks, in das die primären Vasalteile der Leitbündel tauchen. Diese Zone wird als Markkrone bezeichnet. Die Leitbündel sind in der Mitte des Stammes näher aneinander gerückt, das Mark und die inneren Teile der primären Markstrahlen zerquetschend. Ihre primären Vasalteile haben, soweit sie aus dünnwandigen Elementen bestehen, das gleiche Schicksal erfahren.

Die Frühjahrsgefäße zeigen bis zum dritten oder vierten Jahresring eine Volumenzunahme. Vom Frühjahr gegen Sommer nimmt in jedem Jahresring die Weite der Gefäße sehr rasch ab, schließlich werden solche nicht mehr erzeugt. Die Hauptmasse des Holzes besteht aus Tracheïden. Sie führen normalerweise Wasser, werden sich aber z. T. bei der Präparation mit Luft gefüllt haben. Die Gefäße sind mehr oder weniger vollständig, vor allem aber an ihrer dem Kambium zugekehrten Seite, von abgeflachten, etwas schwächer verdickten, protoplasmatischen Inhalt und meist auch Stärke führenden Holzparenchymzellen umgeben. Diese Holzparenchymzellen zeigen sich auch zwischen den Tracheïden verteilt und bilden mehr oder weniger deutlich tangentiale Bänder. Alle diese lebenden Elemente stehen in gegenseitiger, wenn auch im Querschnitt nur an einzelnen Stellen nachweisbarer Verbindung und kommunizieren auch mit den lebenden Zellen des Markstrahls. Die Gefäße sind nur, wo sie aneinander und an Tracheïden stoßen, mit behöften Tüpfeln versehen; wo ein Gefäßtüpfel oder Tracheïdentüpfel auf den Tüpfel einer Holzparenchymzelle trifft, ist er nur einseitig, nämlich nach der Gefäß- oder Tracheïdenseite zu behöft, d. h. nur an dieser Seite zeigt sich der Tüpfel an seiner Mündungsstelle verengt. — Die Schließhaut solcher einseitig behöfter Tüpfel ist, wie stärkere Vergrößerungen zeigen, ohne zentrale Verdickung (ohne Torus) und läßt sich, zum Unterschied von den mit Torus versehenen Schließhäuten, mit Chlorzinkjodlösung hier, wie auch sonst in Hölzern, blau färben[1]). — Die Markstrahlzellen sind radial gestreckt, relativ schwach verdickt, mit zahlreichen kleinen Poren versehen. Sie führen Stärke, Luft oder Kalziumoxalat-Drusen.

Die stärkeführenden Zellen des Markstrahls stehen in gegenseitiger Verbindung. Luftführende Interzellularen folgen dem Längsverlauf des Markstrahls, besonders in dessen inneren Teilen. Die Markstrahlzellen von Aristolochia sind unverholzt, eine Eigenschaft, die den Markstrahlelementen verschiedener Schling- und Kletterpflanzen zukommt. — An der Grenze des Holzkörpers erkennen wir leicht das aus dünnwandigen, flachen, radial angeordneten Zellen gebildete Kambium und jenseits desselben die Baststränge. Die tätigen Siebteile bestehen auch hier aus weitlumigeren Siebröhren, die an ihrem inneren Rand je eine flache Geleitzelle aufweisen, und aus Bastparenchym. Die älteren Siebteile zeigen eine Abwechslung kollabierter Zellmassen und nicht kollabierter, vorwiegend einschichtiger Zellagen. Letztere bestehen aus Bastparenchym und werden zunächst im Frühjahr angelegt, worauf erst der aus Siebröhren, Geleitzellen und Bastparenchym bestehende Zuwachs erfolgt, der im nächsten Jahr zerdrückt wird. Die Bastparenchymbänder des älteren Siebteils, sowie die Bastparenchymzellen des noch tätigen, treten, falls sie Stärke führen, sehr deutlich nach Jod-Zusatz hervor. Besonders reich an Stärke findet man sie in Material, das vom Anfang des Winters stammt. Die toten Sieb-

[1]) Vgl. E. Russow, Bot. Zentralbl., Bd. XIII, S. 140.

teile werden in der Folge mehr und mehr gedehnt und bilden so immer schmäler werdende, weiße Streifen von bogenförmigem Verlauf. Die lebenden Bastparenchymstreifen folgen durch Zellteilung der Dickenzunahme des Stammes. Durch Einschaltung neuer Markstrahlen erfahren die Siebteile fort und fort eine Zweiteilung, daher umspannt jeder äußere Siebteil zwei innere. Außerhalb der Bastzone sieht man das zu einer schmalen Zone gestreckte, parenchymatische Gewebe des Perizykels, dann die auseinandergesprengten Stücke des Sklerenchymrings. Die Lücken werden von Gewebemassen ausgefüllt, die durch Teilung der angrenzenden Parenchyme entstanden. Zunächst wurde der Ring mechanisch ergänzt, indem das in die Lücken eingedrungene Gewebe seine Zellen zu Steinzellen (Sklereïden) verdickte. Diese mit feinen Poren versehenen, annähernd isodiametrischen Steinzellen sind nur stellenweise zu sehen, da bei weiterer Sprengung des Rings die Verdickung der die Lücken ausfüllenden Zellen unterbleibt. Der ursprüngliche Kollenchymring zeigt sich ebenfalls in Stücke zerlegt, denn seine Zellen wurden an einzelnen Stellen tangential gedehnt und traten in Teilung ein, um parenchymatischen Gewebemassen den Ursprung zu geben. Die Oberfläche des Stammes wird vom Periderm eingenommen, in dem breite, aus weiten dünnwandigen Zellen bestehende Zonen, mit schmäleren, aus engeren Zellen bestehenden abwechseln. Wie im Mark und den Markstrahlen, so findet man auch in der Rinde Kristal drusen von oxalsaurem Kalk.

Der radiale Längsschnitt zeigt uns im sekundären Holz weitere und engere Gefäße, alle behöft getüpfelt, mit ringförmigen Diaphragmen; enge, behöft getüpfelte, an ihren Enden verjüngte Tracheïden; an den queren, porösen Wänden, mit denen sie aufeinanderstoßen, an ihrer einfachen Tüpfelung und ihrem Inhalt kenntliche Holzparenchzmzellen, und, wie wir in der Längsansicht jetzt feststellen können, auch holzparenchymatische Ersatzfasern. Letztere unterscheiden sich von den Holzparenchymzellen dadurch, daß die Kambiumzelle, die ihnen den Ursprung gab, ungeteilt blieb, während sie sich zur Bildung von Holzparenchymzellen frühzeitig einmal oder wiederholte Male der Quere nach teilte. Das im Frühling erzeugte Frühholz weist die großen Gefäße auf, während das im Sommer erzeugte Spätholz schließlich nur noch aus Tracheïden und Holzparenchym, bzw. den sie vertretenden, lebenden Ersatzfasern besteht. Hat der Schnitt einen Markstrahl gestreift, so sieht man dessen dünnwandige Zellen in radialen Zügen verlaufen. Man stellt jetzt leicht fest, daß die stärkeführenden Zellen des Markstrahls ein zusammenhängendes System bilden. Zwischen den Markstrahlzellen fallen die ziemlich weiten, vornehmlich radial angeordneten Interzellularräume auf. An der äußeren Grenze des Holzes erkennen wir die flachen, inhaltsreichen, dünnwandigen Kambiumzellen; dann die tätige Bastzone, in deren älteren Teilen die Siebröhren starke, weißglänzende Kallusplatten aufweisen; hierauf die mit kollabierten Elementen abwechselnden, parenchymatischen, nicht kollabierten, meist stärkehaltigen Elemente des älteren Bastes. In der Peripherie fällt uns besonders das geschichtete Periderm auf. Da dessen Zellen ebenso hoch wie breit sind, so erscheint sein Längs- und Querschnitt gleich. — Der tangentiale Längsschnitt zeigt uns die Markstrahlen in Gestalt breiterer oder schmälerer, zueinander mehr oder weniger paralleler Streifen, die durch entsprechende Streifen des Holzkörpers voneinander getrennt werden. Die primären oder großen Markstrahlen bilden bei Aristolochia in einer

für Schlingpflanzen überhaupt charakteristischen Ausbildung meist Platten, welche die ganze Höhe eines Internodiums erreichen; sie können aber auch — was sich an aufeinanderfolgenden tangentialen Schnitten feststellen läßt, vor deren Herstellung man auf der jeweiligen Schnittfläche durch Phlorogluzin-Salzsäure (vgl. S. 267) die unverholzten, hell bleibenden Markstrahlen gegen die durch das Reagens rotgefärbte verholzte Umgebung hervorheben kann, — nach der Peripherie zu sich teilen, in übereinanderstehende Streifen zersplittern, und so einem Kamm gleichen, dessen nach dem Stammäußern gerichtete Zähne an der Markverbindung befestigt sind. So ist der ganze Aristolochia-Stamm von großen, zarten Gewebeplatten durchsetzt, worauf seine bedeutende Torsionsfähigkeit zurückzuführen ist, die z. B. der Buche fehlt, bei der die großen Markstrahlen fächerartig in tangentialer Richtung das Holz durchsetzen[1]). Die Höhe der sekundär eingeschalteten, kleinen Markstrahlen nimmt in rascher Folge ab.

Wählt man ein im Winter, vor Beginn der Vegetation, in Alkohol eingelegtes Stammstück zur Untersuchung, so ist die Stärke aus den Zellen verschwunden. Untersucht man ein Stammstück um die nämliche Jahreszeit frisch, so findet man an Stelle der Stärke gelbe, stark lichtbrechende Fettropfen in den Zellen. Eine ähnliche Umwandlung erfährt die Stärke in vielen einheimischen Holzpflanzen während des Winters. Aus dem Alkohol-Material sind die Fettropfen verschwunden.

Da es immerhin nicht geringe Schwierigkeit bereitet, aus den komplizierten Bildern, wie sie die Schnitte durch das Holz bieten, richtig die einzelnen Elemente herauszufinden, so wollen wir es versuchen, uns auch nach einer anderen Methode zu orientieren. Wir nehmen das sog. SCHULZEsche Mazerationsverfahren zu Hilfe, und zwar übergießen wir in einem weiten Reagenzglas einige Stückchen chlorsaures Kali mit so viel Salpetersäure, daß die Stücke von dieser vollständig bedeckt sind, legen dann die zu untersuchenden, nicht zu dünnen Längsschnitte hinein und erwärmen nun vorsichtig über einer Flamme, bis lebhafte Gasentwicklung eintritt. Dann lassen wir das Reagens noch einige Min. einwirken und gießen hierauf den Inhalt des Reagenzglases in eine größere, mit Wasser gefüllte Schale. Aus dieser werden die herumschwimmenden Schnitte mit dem Glasstab in ein anderes Gefäß mit Wasser übertragen und hierauf in einen Wassertropfen auf den Objektträger gebracht. Die Mazeration darf übrigens nicht in demselben Raum vorgenommen werden, in dem die Mikroskope stehen, da die sich entwickelnden Dämpfe diesen schaden würden. Die auf dem Objektträger befindlichen Präparate werden mit Nadeln zerkleinert und so in ihre einzelnen Elemente zerlegt. Hat das Reagens richtig eingewirkt, so sind die Mittellamellen zwischen den Zellen aufgelöst worden; die Trennung der Zellen ist daher leicht zu vollziehen, weil nach dem Entfernen der Holzstoffe auch die pektinreichen Mittellamellen in Lösung gingen, während die sekundären Verdickungsschichten der Zellen zwar ihrer Holzstoffe, nicht aber ihrer Zellulose beraubt wurden. Die Wände der isolierten Zellen werden somit von ihren sekundären Verdickungsschichten gebildet.

Man findet unter dem Mikroskop alle die Elemente isoliert wieder, die man zuvor im Verband studieren mußte. Sie sind in ihrer Struktur meist gut erhalten und lassen sich mit Chlorzinkjodlösung größtenteils violett färben. Da fallen uns zunächst die getüpfelten Gefäße auf, und zwar meist

[1]) K. ZIJLSTRA, Recueil d. Trav. Néerland., Bd. V, 1908, S. 27 ff.

an den Stellen, die den ringförmigen Diaphragmen entsprechen, in Stücke getrennt. Besonders zahlreich erscheinen im Präparat die isolierten Tracheïden; sie sind gestreckt, haben verjüngte, abgerundete Enden und behöfte Tüpfel. Diese Tüpfel zeigen sich jetzt bei gequollenen Wänden als schmale, schräg aufsteigende Spalten; doch kann man immerhin bei Einstellung des optischen Durchschnittes feststellen, daß sich die Spalten nach außen erweitern. Wo einige Tracheïden verbunden blieben, zeigen die Tüpfel ein Kreuz, weil deren spaltenförmige Mündungen in den anstoßenden Zellen entgegengesetzt geneigt sind. — Außer Gefäßen und Tracheïden finden wir in unserem Präparat auch die dünnwandigeren, mit größeren, flachen Tüpfeln versehenen Holzparenchymzellen und Ersatzfasern; beide sind an ihrem zusammengeballten, körnigen Inhalt kenntlich. Die Holzparenchymzellen erhält man, wie wir jetzt leicht feststellen können, vornehmlich zusammenhängend in Fäden, die den Ersatzfasern in der Umgrenzung gleichen, von diesen aber dadurch verschieden sind, daß ihr Lumen durch quer gestellte Wände in mehrere, übereinanderstehende, kürzere Abschnitte zerlegt ist.

Statt mit chlorsaurem Kali und Salpetersäure lassen sich die Schnitte auch mit Eau de Javelle mazerieren[1]). Will man besonders schonend verfahren, so bringt man die Schnitte in die kalte, alle 8 Tage zu wechselnde Lauge und zwar für ca. 5 Wochen. Es genügt dann starkes Schütteln, um sämtliche Elemente zu isolieren, wobei sich diese vollkommen intakt und die Wände nicht verquollen zeigen. Bei Anwendung warmer Lauge geht die Mazeration schneller vor sich und zwar in einigen Minuten, je nach der Beschaffenheit der Lauge. — Auch Chromsäure läßt sich als Mazerationsmittel verwenden. Man benutzt dazu eine konz. wässr. Lösung und läßt diese nur ganz kurze Zeit, evtl. nur $^1/_2$ Min. lang einwirken. Dann wäscht man mit viel Wasser aus. Die Schnitte dürfen nicht zu dick sein, sonst lassen sie sich nach dieser Behandlung nicht gut zerteilen; überhaupt steht dieses Verfahren den vorhin geschilderten bedeutend nach. — Bei krautartigen Gewächsen, wenn die Mittellamellen zwischen den Zellen nicht verholzt sind, empfiehlt Mangin[2]) als Mazerationsflüssigkeit Salzsäure-Alkohol und Ammoniak. Der Salzsäure-Alkohol besteht aus 1 T. Salzsäure und 5—3 T. Alkohol. Läßt man diese Flüssigkeit etwa 24 Std. auf die Schnitte einwirken, wässert dann aus und behandelt mit einem Alkali, etwa mit 10-proz. Ammoniak, so trennen sich die Zellen bei leichtem Druck voneinander. — Nach Richter[3]) ist konz. Ammoniaklösung auch unmittelbar schon imstande, verschiedene solche Gewebe in ihre Zellen zu zerlegen. Am schnellsten gelingt dies, wenn die zu mazerierenden Schnitte in der Ammoniaklösung gekocht werden. Doch wirken bereits warme und selbst kalte Ammoniaklösungen in gleicher Weise, wenn auch erheblich langsamer, ein. Dieses Mazerationsverfahren hat vor den meisten anderen den Vorzug, daß bei seiner Anwendung die Inhaltsbestandteile der isolierten Zellen besser erhalten bleiben. Handelt es sich darum, nur die Elemente des Korks voneinander zu trennen, so legt man die Schnitte zunächst in Eau de Javelle und wäscht dann mit salzsäurehaltigem Wasser aus[4]).

[1]) Nach Mitteilung von G. Berthold. Vgl. a. J. Hämmerle, Dissertation, Göttingen, 1898.
[2]) L. Mangin, Compt. rend. Acad. Paris, Bd. CX, 1890, S. 295.
[3]) O. Richter, Österr. bot. Zeitschr., Jahrg. 1900, Nr. 1.
[4]) K. Kroemer, Bibliotheca Botanica, Heft 59, 1903, S. 8.

X. Abschnitt.

Bau des Koniferen-Stammes. Kambiumtätigkeit. Elemente des sekundären Zuwachses. Harzreaktionen.

Holzstoffreaktionen. Herstellung von Serienschnitten aus harten Pflanzenteilen.

Untersuchungsmaterial.

Stücke aus einem starken Stamm der Kiefer im Juni in Alkohol eingelegt, einige Tage vor der Untersuchung in ein Gemisch von gleichen Teilen Alkohol und Glyzerin übertragen. Außerdem ein frisches Stammstück.

Wichtigste Reagentien und Farbstoffe.

Glyzerin. — Jodglyzerin. — Chlorzinkjodlösung. — Jodjodkaliumlösung. — Trockene Alkannawurzel. — Phlorogluzin. — Schwefelsaures Anilin. — Konz. und verd. Schwefelsäure. — Konz. Salzsäure. — Anilinblau.

Wir wollen jetzt den Bau des Stammes der Kiefer (Pinus silvestris) einem eingehenden Studium unterwerfen[1]). Charakteristisch für die Koniferen ist, daß der ganze sekundäre Zuwachs im Holz fast nur aus einer Art von Elementen, und zwar typischen Tracheïden besteht. Bei einer bestimmten Anzahl von Arten, so der Kiefer, werden Stränge aus Holzparenchym zwischen diese Tracheïden eingeschaltet. Gefäße gehen den Nadelhölzern ab, und nach Gefäßtracheïden muß man an der sogenannten Markkrone, in den primären Gefäßteilen der Leitbündel, suchen.

Über die Richtung der Schnitte, die wir auszuführen beabsichtigen, sowie über die Verteilung der Gewebe und der einzelnen Elemente, die wir untersuchen wollen, orientieren wir uns zunächst bei Lupenvergrößerung an einem nur wenige Zentimeter dicken, frischen Stammstückchen (Fig. 121). Der Gegensatz von Holz und Bast, die Jahresringe, Harzgänge und Markstrahlen treten uns auf diese Weise deutlich entgegen (vgl. die Erklärung zu Fig. 121).

Bei der Untersuchung, die wir hierauf mit stärkerer Vergrößerung vornehmen, soll auch der Inhalt der Zellen, vor allem auch das Kambium, Berücksichtigung finden, und es empfiehlt sich daher, Alkoholmaterial zu verwenden; denn an frischem Kiefernholz wird das Kambium beim Schneiden meist durchrissen, und trockene Stammstücke geben weniger gute Bilder. Das Alkoholmaterial legen wir zuvor auf

[1]) Vgl. hierzu auch L. Kny, Bot. Wandtafeln, 1884, Text S. 191; E. Strasburger, Leitungsbahnen, 1891, S. 1 ff.; dort die ältere Literatur. Außerdem A. W. Hill, Ann. of Bot., Bd. XV, 1901, S. 575.

ca. 24 Std. in ein Gemisch von gleichen Teilen Alkohol und Glyzerin ein, worauf es sich besonders gut schneiden läßt. Das Alkoholmaterial gewährt auch weiter den Vorteil, daß es uns den Zellinhalt gehärtet vorführt. Wir wählen Stücke aus der Peripherie eines dickeren Stammes zur Untersuchung, weil die Tracheïden in den später erzeugten Jahresringen weiter sind. Das Stammstück ist am besten im Monat Juni oder Juli in Alkohol einzulegen, das heißt zu einer Zeit, wo sich das Kambium in voller Tätigkeit befindet. Zur Untersuchung soll uns ein solches Stammstück dienen. Wir beobachten die Schnitte in Glyzerin; falls wir sie anderweitig mit Reagentien untersuchen wollen, spülen wir sie zuvor in Wasser ab.

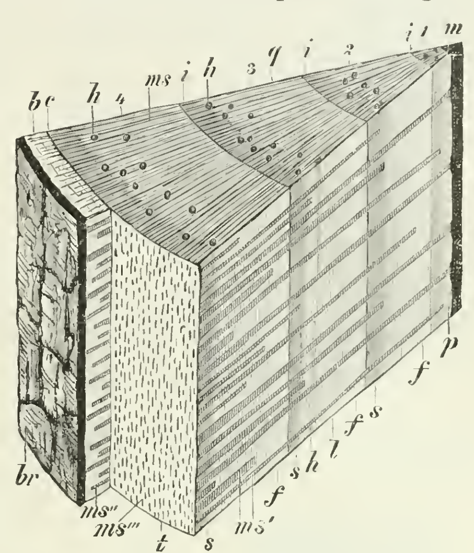


Fig. 121. Stück eines vierjährigen Stammteils der Kiefer, im Winter geschnitten. *q* Querschnitt-, *l* radiale Längsschnitt-, *t* tangentiale Längsschnitt-Ansicht. *f* Frühholz, *s* Spätholz, *m* Mark, *p* primäre Vasalteile, *1*, *2*, *3* und *4* die vier aufeinander folgenden Jahresringe des Holzkörpers, *i* Jahresgrenzen, *ms* Markstrahlen in der Querschnittansicht des Holzkörpers, *ms'* in der Längsschnittansicht des Holzkörpers, *ms''* innerhalb der Bastzone, *ms'''* in der tangentialen Längsschnittansicht, *c* Kambiumring, *b* Bastzone, *h* Harzgänge, *br* die außerhalb der ersten Peridermlage befindliche, der primären Rinde entsprechende Borke. Vergr. 6.

Die durch einen Stammteil herzustellenden Schnitte müssen genau in den durch Fig. 121 angegebenen Richtungen geführt werden. Wir brauchen einen Querschnitt, der senkrecht zur Längsachse zu verlaufen hat, einen radialen Längsschnitt, welcher der Richtung der Markstrahlen folgt, und einen tangentialen Längsschnitt, der die Markstrahlen senkrecht trifft. Die Querschnitte müssen Holz, Kambium und Bast umfassen; ebenso die radialen Längsschnitte. Der tangentialen Längsschnitte sind mindestens zwei auszuführen, einer innerhalb des Holzkörpers, ein anderer innerhalb des Bastes.

Gute Schnitte durch den Holzkörper, namentlich gute Querschnitte, lassen sich nur mit Hilfe sehr scharfer Messer herstellen. Stumpfe Messer reißen die inneren Verdickungsschichten aus den Tracheïden heraus und machen das Objekt unbrauchbar. Schon kleine Schnitte genügen für die Untersuchung; sie müssen aber sehr dünn sein. Es gilt, alle die früher (S. 117) erwähnten Vorsichtsmaßregeln beim Schneiden zu beachten, damit das Messer nicht schartig wird. Benutzt man ein bikonkaves Rasiermesser, so kann man im wesentlichen richtig orientierte Schnitte nur aus den Rändern des Stammstücks gewinnen; daher sollte man zum Schneiden des Holzes nur plan- oder plankonkav geschliffene Messer benutzen. Mit einem scharfen Skalpell stelle man sich zuvor an dem Objekt eine glatte Schnittfläche her.

In unserem **Querschnitt**, der sich über Holzkörper, Kambium und Bast erstreckt, fallen uns vor allem die in radialen Reihen angeordneten Tracheïden auf. Von Zeit zu Zeit verdoppelt sich eine solche Reihe in der Richtung von innen nach außen; auch sieht man häufig Reihen das Kambium nicht erreichen, andere wieder sich zwischen die bereits vorhandenen einschieben. Diese letzteren sind anfangs schmal und nehmen erst allmählich die Breite der übrigen Reihen an. Die Tracheïden sind im Grundriß meist viereckig, doch manche auch fünf- und sechseckig. Die in jedem Jahr zuerst erzeugten Tracheïden zeichnen sich durch ihre Weitlumigkeit aus, die später hinzukommenden werden enger und dickwandiger. An diese dickwandigen, engen Elemente setzen dann ohne Vermittlung wieder die weniger stark verdickten, weitlumigeren des nächsten Frühjahrs an, wodurch sich die auch dem bloßen Auge sichtbare Jahresgrenze markiert (Fig. 125). Wir unterscheiden danach weitlumigeres Frühholz (Weitholz) und englumigeres Spätholz (Engholz).

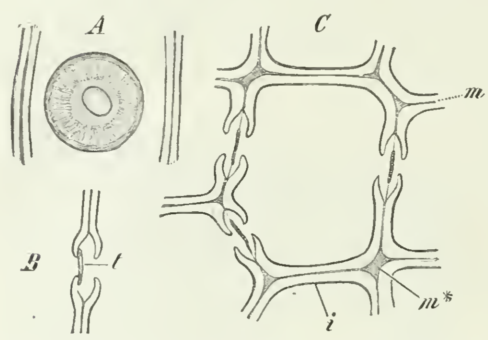
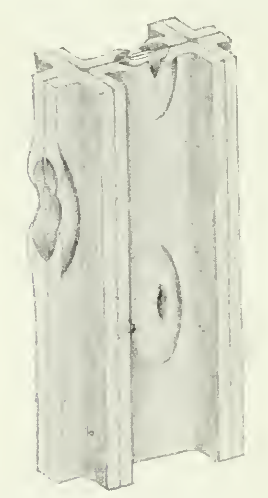


Fig. 122. Pinus silvestris. *A* Ein Hoftüpfel in Flächenansicht. *B* Ein Hoftüpfel in tangentialem Längsschnitt; *t* der Torus. *C* Querschnitt einer Tracheïde; *m* Mittellamelle; *m** ein Zwickel; *i* das Grenzhäutchen. Vergr. 540.


Fig. 123. Pinus silvestris. Hoftüpfel. Körperlich dargestellt. Vergr. 540.

Im Frühholz wie im Spätholz, besonders aber in letzterem, werden breitere Tracheïdenreihen öfters durch schmälere seitlich getrennt. Dann hat der Schnitt die einen Tracheïden in ihrem mittleren Verlauf, die anderen gegen ihre sich verschmälernden Enden getroffen. Da die Spättracheïden am längsten sind und sich am stärksten zuspitzen, so wird man ihre schmalen Enden besonders oft in den Schnitten zu sehen bekommen.

An den radialen Wänden der Tracheïden befinden sich die Hoftüpfel, die im Querschnitt je zwei einander zugekehrten Zangenköpfen oder maurischen Spitzbögen gleichen (vgl. Fig. 122 *C*, ferner die Tüpfeldurchschnitte in Fig. 123). Der Hoftüpfel wird von der Schließhaut durchsetzt, die in ihrer Mitte sich zum „Torus“ angeschwollen zeigt. Auf den tangentialen Wänden der Tracheïden des Spätholzes von Pinus silvestris trifft man nur ausnahmsweise einzelne Hoftüpfel an[1]). An den Spättracheïden werden die Hoftüpfel viel kleiner. Zwischen den radialen Reihen der Tracheïden verlaufen die schmalen,

[1]) Nach A. BURGERSTEIN, WIESNERS Festschrift, Wien 1908, S. 111, ein Charakteristikum für bestimmte Pinus-Arten.

einschichtigen, zum Teil mehrschichtigen Markstrahlen. Das Aussehen der Markstrahlen ist ein verschiedenes, je nachdem der Schnitt Reihen von ihnen traf, die protoplasmatischen Inhalt bzw. auch Stärke führen, oder inhaltsleere Reihen, die der Wasserleitung dienen. Die mit protoplasmatischem Inhalt versehenen Reihen weisen kürzere, schwächer verdickte Zellen auf, die mit den angrenzenden Tracheïden durch große, nur in letzteren mit Hof versehene, somit einseitig behöfte Tüpfel in Verbindung stehen; die Schließhäute dieser Tüpfel nehmen die ganze Breite der Tracheïde ein; sie sind ohne Torus und in die Tracheïde vorgewölbt. Die Zellen der wasserleitenden Reihen sind länger, stärker verdickt und stehen untereinander und mit den Tracheïden durch kleinere, zweiseitig behöfte, echte Hoftüpfel in Verbindung. Hat der Querschnitt einen mehrschichtigen Markstrahl in halber Höhe getroffen, so ist in dessen Innern ein horizontal verlaufender Gang zu sehen, ein Harzgang, der im frischen Holz mit Harz erfüllt war. In unmittelbarer Nähe des Kambiums (Fig. 124) treten uns die noch unfertigen Tracheïden entgegen. Die Wände der Zellen nehmen dort, nach der kambialen Zone hin, rasch an Dicke ab. Auf Querschnitten aus älteren Stämmen sieht man übrigens meist die radialen Wände innerhalb der Kambiumzone wieder dicker werden.

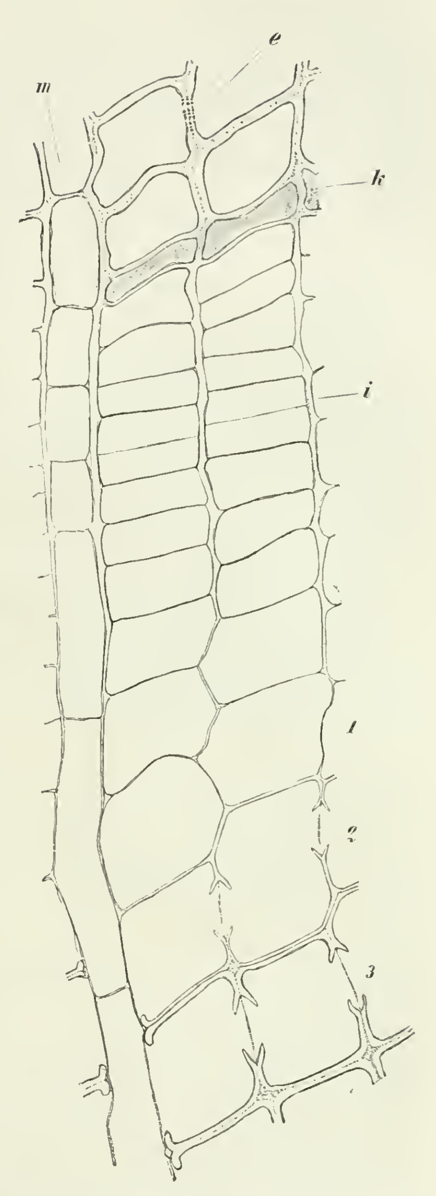


Fig. 124. Teil aus dem Querschnitt eines älteren Stammes von Pinus silvestris. Der Streifen durchsetzt das Kambium (*i* Initialschicht) und endet einerseits im Jungholz, andererseits im Jungbast. *1*, *2* und *3* Entwicklungszustände des Hoftüpfels, *m* Markstrahl, *e* Siebplatte, *k* flache Zellen mit braunem Inhalt, vielfach Kristalle führend. Vergr. 540.

Das, was wir Kambium nennen, stellt eine Gewebezone dar, die meistens mehrere Zellen, unter Umständen nur eine Zelle dick ist, und in der zeitweise lebhaft Teilungen fast nur durch tangentiale Wände stattfinden[1]). Bei den Koniferen, also auch in dem uns

[1]) J. C. Schoute, Verh. k. Akad. d. Wetensch. Amsterdam, IX, 4, 1902.

vorliegenden Fall, so im allgemeinen auch bei den Dikotylen, ist das in Tätigkeit befindliche mehrschichtige Kambium mit einer „Initialschicht" versehen, d. h. in jeder seiner radialen Reihen ist eine Zelle vorhanden, die durch ihre Teilungen Tochterzellen sowohl nach der Holz- wie auch nach der Bastseite abgibt. Die so erzeugten Tochterzellen fahren fort, sich zunächst lebhaft zu teilen, doch nimmt mit der Entfernung von der Initialschicht diese Teilungsfähigkeit rasch ab.

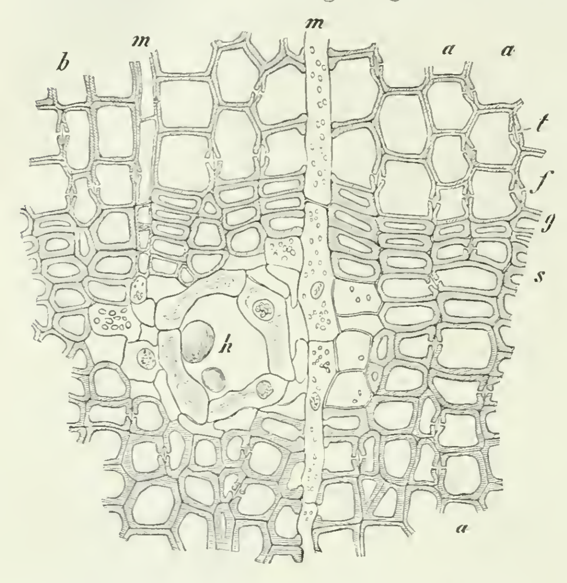


Fig. 125. Partie eines Querschnittes durch das Kiefernholz an einer Jahresgrenze. *f* Frühholz, *s* Spätholz, *t* Hoftüpfel, *a* eine sich nach außen verdoppelnde Tracheïdenreihe, *b* eine neu sich einschiebende Tracheïdenreihe, *h* Harzgang, *m* Markstrahlen. Vergr. 240.

Die Reihen der Tracheïden setzen sich durch das Kambium in die Reihen der Bastelemente fort, die zunächst ebenso streng die radiale Anordnung einhalten. Die Zellwände verdicken sich auf der Bastseite sehr rasch und bekommen dort ein mattweißes Aussehen. An den radialen Wänden der weitlumigeren Bastelemente werden entsprechend den Stellen, wo im Holz die Hoftüpfel stehen, die Siebtüpfel angelegt; man erkennt an sehr zarten Schnitten die feinen Poren, die diese Tüpfel durchsetzen. Geleitzellen werden an den Siebröhren der Gymnospermen nicht erzeugt. Vorwiegend einschichtige Bänder von Bastparenchym wechseln mit den stärkeren Lagen der Siebröhren ab. Sie werden der Hauptsache nach von stärkeführenden Zellen gebildet, die in älterem Bast bedeutend anschwellen und dann viel deutlicher in die Erscheinung treten. Zwischen den stärkehaltigen Zellen sind kristallführende (Fig. 126 *k*) zu sehen, die frühzeitig durch ihren braunen Inhalt auffallen. Nur eine verhältnismäßig enge Zone des Bastes wird von den turgeszenten, die ursprüngliche Anordnung einhaltenden Elementen gebildet. Jenseits dieser Zone krümmen sich die radialen Zellreihen; die Zellwände beginnen sich zu bräunen; die Lumina der Zellen werden mehr oder weniger zusammengedrückt (Fig. 126 *cv*). Nur die stärkeführenden Zellen des Bastes und der Markstrahlen schwellen bedeutend an, runden sich ab und erscheinen nun als mehr oder weniger kugelige, mit Stärke dicht angefüllte Elemente. Schließlich sind die Siebröhren und kristallführenden Zellen ganz zerquetscht und tangential gedehnt worden und trennen wie geschichtete Häute die aufeinanderfolgenden Zonen der großen, stärkeführenden Zellen. Aus letzteren allein scheinen nun die äußeren Bastteile zu bestehen. Zu äußerst stößt man auf schmale Korkblätter

und auf durch diese peripherisch abgetrenntes, tief gebräuntes und abgestorbenes Gewebe, die Borke.

Unberücksichtigt blieben bis jetzt die Holzparenchymstränge, die jeder Querschnitt im Kiefernholz zeigt, und die stets einen Harzgang führen (Fig. 125)[1]. Der Querschnitt durch das Holz trifft die Harzgänge der Quere nach. Jeder von ihnen stellt einen Interzellulargang (*h*) dar, der von einer Schicht großer, dünnwandiger Zellen (Epithelzellen) umgeben ist. Die Wände dieser Zellen sind gebräunt; sie führen einen großen Kern und einen Wandbeleg aus Zytoplasma. An diese Zellen grenzen meist stärkeführende Holzparenchymzellen, bzw. auch ein Markstrahl. Wie die Entwicklungsgeschichte lehrt, entstehen die Harzgänge schizogen, das heißt durch Auseinanderweichen sich zunächst berührender Zellen. Diese vertikalen Harzgänge des Holzkörpers werden durch horizontale verbunden, die innerhalb mehrschichtiger Markstrahlen verlaufen.

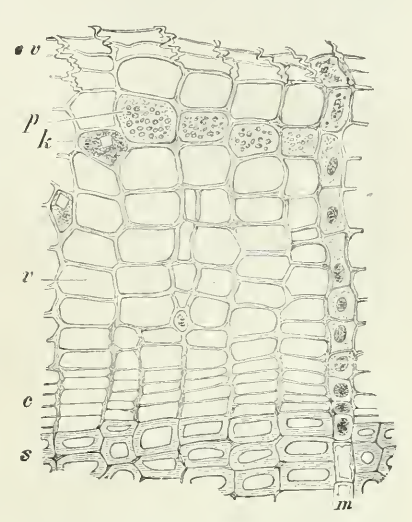


Fig. 126. Querschnitt aus dem Stamm der Kiefer mit ruhendem Kambium zur Winterzeit, den äußeren Rand des Holzkörpers, das Kambium und den angrenzenden Bast in sich fassend. *s* Spätholz, *c* Kambium, *v* Siebröhren, *p* Bastparenchym, *k* kristallführendes Bastparenchym, *cv* außer Funktion gesetzte Siebröhren, *m* Markstrahl. Vergr. 240.

An Alkoholpräparaten haben die Harzgänge ihren Harzgehalt eingebüßt. Querschnitte durch frisches Kiefernholz (Fig. 125) zeigen die Harzgänge mit Harz erfüllt. Dieses erscheint in Gestalt stark lichtbrechender, sich ziehender, oft unregelmäßig umgrenzter Tropfen. Fügen wir ein wenig Alkohol hinzu, so sind alsbald die Harztropfen verschwunden. Wir können sie auch in charakteristischer Weise mit dem roten Farbstoff der Alkannawurzel färben, den wir bereits zum Färben des Öls (S. 131) benutzten. Wir führen zu diesem Zweck einen Querschnitt durch das Kiefernholz und legen ihn auf den Objektträger in einen Wassertropfen. Hierauf stellen wir einen ähnlichen, dünnen Schnitt aus der Borke einer trockenen Alkannawurzel her, blasen die anhaftenden Teilchen von ihm ab, legen ihn dem Kiefernschnitt auf und bedecken mit einem Deckglas. Dann fügen wir einen Tropfen etwa 50-proz. Alkohols am Deckglasrand hinzu und lassen das Objekt eine halbe bis eine ganze Stunde in der großen, feuchten Kammer (S. 103) stehen. Wird hierauf die Alkannaborke abgehoben und der Kiefernschnitt untersucht, so erscheint alles Harz schön dunkelrot gefärbt, während die übrigen Teile des Präparats völlig farblos blieben.

---

[1]) Die Angabe, daß das Holz der Pinusarten durch vollständige Abwesenheit von Holzparenchym charakterisiert sei (vgl. in J. W. Bailey, Bot. Gaz., Bd. XLVIII, 1909, S. 47), stimmt nicht mit den Tatsachen überein.

Mit Chlorzinkjod behandelte Querschnitte, am besten durch Alkoholmaterial, zeigen die Wände der älteren Tracheïden gelbbraun, nur ihre innersten Verdickungsschichten stellenweise violett gefärbt. In der Nähe des Kambiums, in den nicht völlig ausgebildeten Tracheïden, sind zytoplasmatischer Inhalt und Kern jetzt leicht zu sehen. Ebenso sicher ist festzustellen, daß die Tracheïden mit ihrer Fertigstellung allen lebenden Inhalt verlieren. Die an das Kambium grenzenden, jüngsten Zellen haben sich hellviolett gefärbt. Im Kambium selbst zeigen die radialen Trennungswände die nämliche Färbung, während die neu angelegten Scheidewände nur gelblich gefärbt erscheinen, da sie aus Pektinverbindungen bestehen und erst weiterhin durch zellulosehaltige Membranlamellen verdickt werden sollen. Die Wände der Bastteile sind violett gefärbt. Der Inhalt der kristallführenden Zellen des Bastes ist braun geblieben, rotbraun erscheinen die Zellen in den Korklagen. Die besonders dünnen Innenwände der die Harzgänge umgebenden Zellen färben sich meistens schmutzig violett. Durch sorgfältige Untersuchung ist festzustellen, daß sich die Schließhäute der einseitig behöften Tüpfel violett gefärbt haben, die Schließhäute der zweiseitig behöften Tüpfel hingegen farblos geblieben sind.

An zarten Querschnitten können wir auch sehen, daß die Tracheïden durch feine Trennungslinien, die Mittellamellen (Fig. 122 *m*, s. a. Fig. 123) geschieden sind. Wo mehr als zwei Tracheïden aneinanderstoßen, ist die Mittellamelle zu einem soliden oder hohlen Zwickel (*m**) erweitert. Die innere Umgrenzung der Zellwandung ist stärker lichtbrechend und bildet das Grenzhäutchen (*i*), das an den englumigeren Spättracheïden besonders deutlich ist. Das alles wird noch klarer bei Einwirkung von konz. Schwefelsäure. Die Verdickungsschichten quellen und werden schließlich aufgelöst; das Grenzhäutchen widersteht länger und tritt scharf hervor. Zuletzt bleibt nur das gelbbraun sich färbende, der Schwefelsäure dauernd widerstehende, zarte Netzwerk der Mittellamellen zurück. Die Resistenzfähigkeit dieses Maschenwerks beruht auf einer besonders starken Verholzung, welche die Mittellamellen der Hölzer auch sonst auszeichnet.

Bei langsamer Quellung in Schwefelsäure läßt sich öfters, so besonders an den stark verdickten Spätholztracheïden, feststellen, daß die Verdickungsschichten aus sehr zahlreichen, äußerst zarten Lamellen bestehen. Mit Chlorzinkjodlösung wird der Querschnitt so, wie zuvor der Längsschnitt, gelbbraun gefärbt, die Mittellamellen reiner gelb; in einzelnen Zellen nimmt auch wohl noch der innere, an das Grenzhäutchen unmittelbar grenzende Teil der Verdickungsschicht einen violetten Ton an. Läßt man auf die Chlorzinkjodbehandlung eine solche mit verd. Schwefelsäure (2 T. Schwefelsäure, 1 T. Wasser) folgen, so wird vielfach unter dem Einfluß der letzteren eine Blaufärbung der ganzen Verdickungsschicht ermöglicht.

Besonders gelungene, sehr dünne Querschnitte des Kiefernholzes geben vorzügliche Testobjekte ab, mit deren Hilfe wir uns ein Urteil über die Güte der mittelstarken und starken Vergrößerungen unseres Mikroskops bilden können. Hinreichend zarte Schnitte vorausgesetzt, muß das Bild völlig plan, lichtstark, in den Umrissen scharf, in den Struktureinzelheiten deutlich und farbenfrei erscheinen.

Um besonders gebräuchliche Reaktionen auf Verholzungsstoffe kennenzulernen, wollen wir uns des Phlorogluzins und des schwefelsauren Anilins bedienen[1]). Wir lösen eine Spur von Phlorogluzin in Alkohol auf und legen einige Querschnitte in diese Lösung. Hiernach bringen wir sie in den Wassertropfen des Objektträgers und lassen vom Deckglasrand aus Salzsäure einwirken, wobei man vorsichtig zu Werke gehen muß, damit die Linse des Objektivs nicht mit der Säure in Berührung kommt. Die Wände der Zellen nehmen alsbald eine prachtvolle, violettrote Färbung an. — Andere Schnitte kommen in eine wässrige Lösung von schwefelsaurem Anilin, wo sie alsbald hochgelb werden; diese Färbung wird durch Zusatz von verdünnter Schwefelsäure noch gesteigert. — Behandelt man frische Stammschnitte der Kiefer, die auch Rindenteile oder Markteile enthalten, mit konz. Salzsäure, so tritt sofort eine Gelbfärbung des Holzes ein, die allmählich von außen nach innen bzw. von innen nach außen fortschreitend, einer violetten Färbung weicht. Auch diese ist die Folge einer Phlorogluzinreaktion, und zwar wird sie durch Phlorogluzin veranlaßt, das aus dem Inhalt der Rindenzellen bzw. der Markzellen, unter Umständen auch der jungen Markstrahlen stammt. Durch kurzes oder längeres Einlegen in Javellesche Lauge lassen sich die Holzstoffe aus den Zellwänden entfernen.

Wir stellen jetzt einen radialen Längsschnitt her, und zwar wieder durch Alkoholmaterial. Dieser zeigt uns im Holzkörper die behöft getüpfelten Tracheïden, die mit ihren Enden zwischeneinander greifen. Bei Frühholztracheïden sind diese Enden abgerundet, bei Spätholztracheïden zugespitzt. Die Hoftüpfel erscheinen bei Flächenansicht in Gestalt von zwei konzentrischen Kreisen (Fig. 122 *A*, s. a. Fig. 123). Der innere, kleine Kreis bzw. die Ellipse, stellt die Mündungsstelle des Tüpfels in den Zellraum vor, der größere, äußere Kreis die weiteste Stelle des Tüpfels, mit der er an die primäre, die beiden Tracheïden trennende Wand ansetzt. Diese primäre Wand ist es, die in der Mitte zum Torus verdickt, die Schließhaut bildet. Der Torus ist als mattglänzende Scheibe von etwa dem doppelten Durchmesser der Mündungsstelle zu erkennen. Die Schließhaut um den Torus weist in günstigen Fällen eine radiale Streifung auf (Fig. 122 *A*). Man kann die Tori deutlich hervortreten lassen, wenn man den Schnitt für etwa 15 Min. in Hämalaun legt. Aus Alkoholmaterial gewonnene Schnitte muß man aber zuvor wässern. An Schnitten, die in Jodlösung untersucht werden, lassen sich hier und da bei Tracheïden jüngerer Jahresringe innerhalb der Hoftüpfel kleine Stärkekörner erkennen. Auch Öltropfen sind dort in manchen Fällen zu finden[2]). Die Hoftüpfel werden in den engsten Spättracheïden schließlich klein und spärlich. — Quer über die Tracheïden sehen wir die Markstrahlzellen verlaufen (Fig. 127). Die Markstrahlen haben meist geringe Höhe, doch kommen auch verhältnismäßig hohe vor. Sie bestehen aus Reihen radial gestreckter Zellen. Die Zellreihen der Mitte führen protoplasmatischen Inhalt (*sm*) und meist auch Stärke und zeigen nach den Tracheïden

[1]) Beide eingeführt von J. Wiesner (vgl. u. a. Sitzber. K. Akad. d. Wiss. Wien, Math.-Nat. Kl., Bd. LXXVII, I. Abt.). S. jedoch die auf S. 273 folgenden näheren Angaben.

[2]) G. Lakon, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXIX, 1911, S. 175.

zu die großen, flachen, einseitig behöften Tüpfel. Die oberen und die unteren Zellreihen sind ohne protoplasmatischen Inhalt, für Wasserleitung bestimmt und hängen durch kleine, doppeltbehöfte Tüpfel mit den Tracheïden zusammen. Sie können daher als tracheïdale Markstrahlelemente (*tm*) bezeichnet werden. Sie stellen tatsächlich Reihen modifizierter Tracheïden dar, die den Holzsträngen entstammen und den Markstrahlen sich angeschlossen haben[1]). In höheren Markstrahlen kommen sie als mittlere Reihen vor. Auch gibt es Markstrahlen, die nur aus ihnen bestehen, wieder andere, denen sie ganz

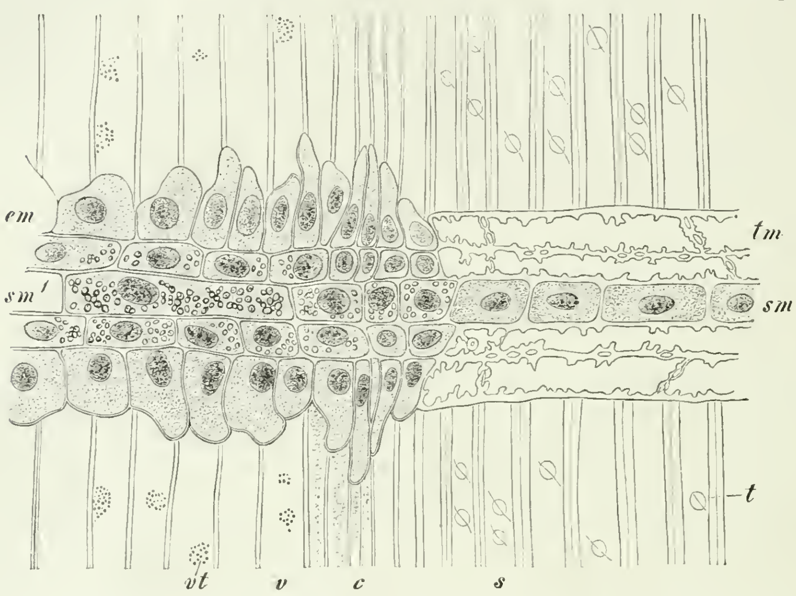


Fig. 127. Radialer Längsschnitt durch den Kiefernstamm, den Außenrand des Holzkörpers, das Kambium und den anschließenden Bast, sowie einen Markstrahl in sich fassend. *s* Spättracheïden, *t* Hoftüpfel, *c* Kambium, *v* Siebröhren, *vt* Siebtüpfel, *tm* tracheïdale Markstrahlzellen, *sm* stärkeführende Markstrahlzellen im Holzkörper, *sm*¹ im Bastkörper, *em* eiweißführende Markstrahlzellen. Vergr. 240.

fehlen. Diese tracheïdalen Markstrahlelemente sind ausgezeichnet durch zackige Verdickungsleisten, die, tangential angebracht, sie vor dem Zusammengedrücktwerden schützen. Sie vermitteln radial den Wasseraustausch zwischen den Tracheïden des Holzkörpers, während die mit protoplasmatischem Inhalt versehenen Markstrahlzellen die Reservestoffe in gleicher Richtung führen. — Das Kambium zeigt sich an dem radialen Längsschnitt aus schmalen, mit mehr oder weniger geneigten Endflächen aufeinander stoßenden Zellen aufgebaut, die Zytoplasma und Kern führen. — Im Bast fallen uns die Siebröhren mit ihren Siebtüpfeln besonders auf. Um letztere leicht zu finden, legen wir einige der radialen Längsschnitte, die wir aus unserem Alkoholmaterial hergestellt haben, in eine wässrige Lösung von Anilinblau. Dieser Farbstoff hat wie u. a. das Korallin (S. 230) die Eigenschaft, den Kallus der Siebröhren intensiv zu färben. In der Anilinblaulösung haben die Schnitte nur wenige Min. zu ver-

[1]) W. P. Thompson, Bot. Gaz., Bd. L, 1910, S. 101.

bleiben, worauf sie in Glyzerin übertragen werden. Dieses läßt den Farbstoff nur in den Siebplatten zurück, während es ihn allen übrigen Teilen des Schnittes entzieht. Jetzt sind bei der mikroskopischen Betrachtung die Siebtüpfel nicht zu übersehen. Ihre Färbung ist schön blau und hält sich längere Zeit in den Präparaten. Wir können die Siebtüpfel schon in nächster Nähe des Kambiums unterscheiden und sie bis in die Gegend verfolgen, in der die Siebröhren zerdrückt werden und die Siebtüpfel daher ihre radiale Stellung einbüßen. Doch zuvor schon verlieren die Siebtüpfel ihre Kallusbelege und damit auch ihre Tinktionsfähigkeit. Die Siebröhren behalten die Gestalt der Kambiumzellen, aus denen sie hervorgingen. Sie tragen die Siebtüpfel nur auf den radialen Wänden, so wie die Tracheïden die Hoftüpfel. Die Siebtüpfel erscheinen uns als runde bis ovale Flecken, die in eine unbestimmte Anzahl fein punktierter Felder geteilt sind (Fig. 128). Die feine Punktierung rührt von Schleimsträngen her, welche die in Kallus verwandelte Substanz der Felder durchsetzen[1]). In einiger Entfernung vom Kambium bedecken sich die ganzen Siebtüpfel mit der sich in Anilinblau glänzend himmelblau färbenden Kallusplatte. In den außer Funktion tretenden Siebröhren wird alle Kallussubstanz gelöst; der Siebtüpfel ist dann nackt und färbt sich nicht mehr. Die tätigen Siebröhren besitzen einen dünnen protoplasmatischen Wandbeleg. Im Innern enthalten sie eine wässrige Eiweißlösung, Körnchen, die sich mit Jod gelb färben, sowie anderweitige Körnchen und flockige Massen, die mit Jodlösung weinrote Amylodextrin-Reaktion geben.

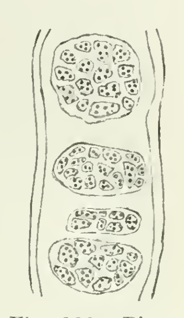


Fig. 128. Pinus silvestris. Einige Siebtüpfel der Terminalwand eines Siebröhrengliedes, einem radialen Längsschnitt entnommen. Vergr. 750.

Die kristallführenden Schläuche des Bastes zeichnen sich auch im Längsschnitt durch ihren braunen Inhalt aus; sie sind relativ kurz, stoßen vorwiegend mit queren Wänden aufeinander und sind augenscheinlich durch quere Teilung der Kambiumzellen entstanden. Sie führen zahlreiche über- und nebeneinander gelagerte, prismatische Kristalle. Es treten uns außerdem die stärkeführenden Zellen entgegen. Diese sind noch kürzer als die Kristallzellen, liegen in Fäden übereinander, sind auch einzeln oder in längerer Reihe den kristallführenden Zellen eingeschaltet. Sie schwellen später sehr bedeutend an.

Die Markstrahlen lassen sich aus dem Holz in den Bast leicht verfolgen; sie erfahren dabei eine charakteristische Veränderung (Fig. 127). Um diese besser feststellen zu können, untersuchen wir einige unserer radialen Längsschnitte in Jodglyzerin. Jene Zellreihen, die im Holzkörper tracheïdal entwickelt sind, setzen sich im Bast größtenteils in eiweißhaltigen Zellen (*em*) fort. Diese eiweißhaltigen Zellreihen der Markstrahlen zeichnen sich dort durch größere Höhe und geringere Länge aus und schmiegen sich den Siebröhren an, mit denen sie durch Siebtüpfel verbunden sind. Sie stellen modifizierte Siebröhren der Baststränge dar, die den Markstrahlen angefügt wor-

[1]) Über deren Entwicklungsgeschichte vgl. A. W. HILL, Ann. of Bot., Bd. XV, 1901, S. 575 u. Bd. XXII, 1908, S. 245.

den sind[1]). Dort, wo die Siebröhren im Bast außer Tätigkeit treten, büßen auch die eiweißhaltigen Markstrahlzellen ihren Inhalt ein und werden zerdrückt. Hieraus geht hervor, daß diese eiweißhaltigen Markstrahlzellen die Funktion der Geleitzellen bei der Kiefer vollziehen. Sie sind stärkefrei, während die stärkehaltigen, sowie ein Teil der tracheïdalen Markstrahlzellreihen des Holzkörpers, sich in stärkehaltige Markstrahlzellreihen (*sm*[1]) des Bastes fortsetzen. Eiweißhaltige Zellreihen in den Markstrahlen kommen nicht dem Bast aller Koniferen zu, es können an ihrer Stelle eiweißhaltige Zellreihen im

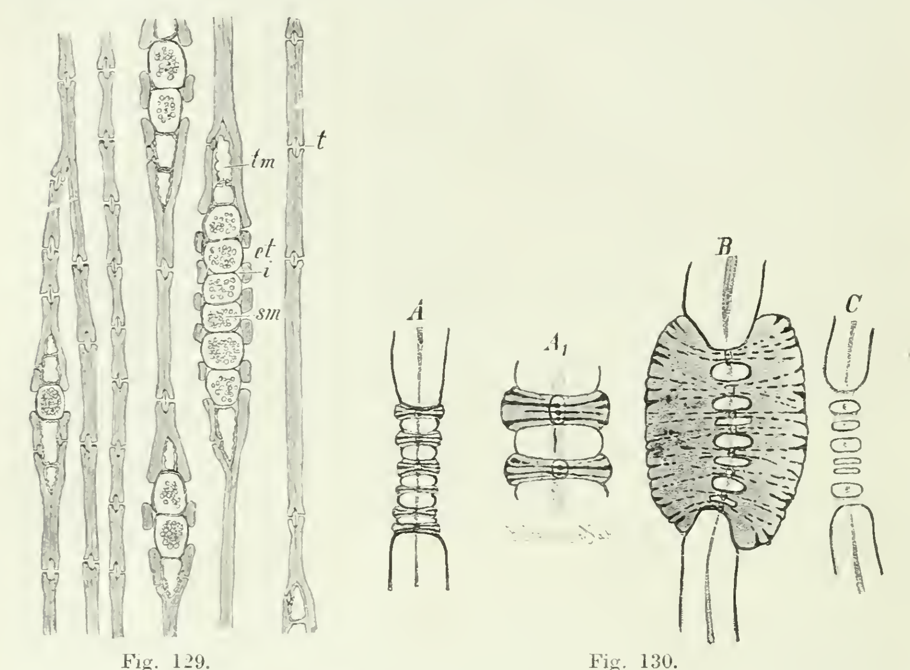


Fig. 129. Fig. 130.

Fig. 129. Tangentialer Längsschnitt durch das Spätholz der Kiefer, *t* Hoftüpfel, *tm* tracheïdale, *sm* stärkeführende Markstrahlzellen, *et* einseitig behöfte Tüpfel, *i* Interzellularen am Markstrahl. Vergr. 240.

Fig. 130. Wandteile der Siebröhren der Kiefer nach Anilinblau-Färbung. *A* noch ohne Kallusplatte; A_1 dasselbe stark vergrößert; *B* mit Kallusplatte; *C* nach deren Auflösung. Vergr. von *A*, *B*, *C* 1500, von A_1 ca. 2800.

Bastparenchym ausgebildet sein. Auch bei der Kiefer treten die eiweißhaltigen Markstrahlzellen erst im sekundären Zuwachs auf.

Die tangentialen Längsschnitte, die wir ebenfalls aus Alkoholmaterial herstellen, müssen mindestens an zwei Stellen ausgeführt werden, nämlich einmal im Holz und einmal im Bast. Der im Holz geführte Schnitt zeigt uns die Tracheïden mit ihren einseitig zugeschärften Enden. Die durchschnittenen Hoftüpfel sehen jetzt so wie im Querschnitt aus (Fig. 122 *B* und Fig. 123 links). — Die quer durchschnittenen Markstrahlen weisen einen spindelförmigen Umriß (Fig. 129) auf, weil ihre Zellen an beiden Enden schmäler werden. Die niedrigsten Markstrahlen sind etwa dreizellig, die meisten etwa achtzellig,

[1]) W. P. Thompson, l. c. 1910.

doch kann ihre Höhe bis auf etwa 20 Zellen steigen. Die niedrigsten sind stets einschichtig, die höheren können in der Mitte mehrschichtig werden; die letzteren weisen den Harzgang, der sich jetzt quer durchschnitten zeigt, auf. Man kann auch an dem tangentialen Längsschnitt die tracheïdalen Elemente des Markstrahls (Fig. 129 *tm*) von den protoplasmahaltigen (*sm*) unschwer unterscheiden; weniger leicht ist es, festzustellen, daß der Markstrahl an seinen beiden Seiten von kleinen, seinem Längsverlauf folgenden Interzellularen begleitet wird. Diese folgen fast ausschließlich den mit protoplasmatischem Inhalt versehenen Zellen des Markstrahls, nicht den tracheïdalen. Durch Vermittlung dieser Interzellularen, die sich von der Peripherie des Stammes durch das Kambium hindurch in den Holzkörper fortsetzen, wird der für die lebenden Elemente nötige Gasaustausch mit der umgebenden Atmosphäre unterhalten. An Schnitten durch frisches Material sind diese Interzellularen mit Luft erfüllt, erscheinen demgemäß schwarz und fallen mehr auf. Am Alkoholmaterial hat der Alkohol die Luft verdrängt. — Durch den Bast muß eine größere Zahl aufeinanderfolgender tangentialer Längsschnitte, bis der Holzkörper erreicht ist, geführt werden. Diese Schnitte durchmustern wir bei schwacher Vergrößerung und suchen für eingehendere Betrachtung solche aus, die noch tätige Siebröhren enthalten. Hierbei können wir uns an den Kallusplatten orientieren, die selbst ohne Tinktion uns als stark lichtbrechende, den Zellwänden anliegende Polster auffallen. Sehr gut läßt sich der durchschnittene Siebtüpfel nach Anilinblaufärbung (S. 268 ff.) studieren. Das Bild des Siebtüpfels ist das nämliche wie im Querschnitt, doch die Zahl der getroffenen Siebtüpfel jetzt weit größer und daher eine günstige Ansicht leichter zu erlangen. Man wird sie wohl am schnellsten an den Rändern des Schnittes finden. Die Siebtüpfel (Fig. 130 *A*) zeigen sich uns im Profil, innerhalb der radialen Siebröhrenwände. Sie sind von Gruppen sehr feiner in je einem gemeinsamen Kallus verlaufender Schleimfäden durchzogen. An der Stelle, wo sie die Mittellamelle durchsetzen, weist diese knötchenförmige Anschwellungen auf (A_1). — Die die Siebtüpfel deckenden Kallusplatten (*B*) treten mit leuchtend blauer Farbe hervor. Mit zunehmender Ausbildung, in deren Verlauf die Schleimfäden durchbrochen werden, vollziehen sie den Verschluß der Siebröhren; dann werden sie und der Inhalt der Siebfelder gelöst (*C*)[1].

Eine eingehende Untersuchung der Hoftüpfel auf radialen Längsschnitten lehrt, daß die Schließhaut um den Torus aus radial verlaufenden Lamellen besteht[2]). Diese treten am besten an Präparaten, die man aus trockenem Holz herstellte, hervor. — In solchem trockenen Holz ist die Schließhaut der größeren Hoftüpfel der einen Seite des Hofraums angedrückt, daher schwer zu beobachten. Um sie im Innern des Hofraums ausgespannt zu sehen (wie im Querschnitt Fig. 122 *C* und Fig. 123 oben und links), muß man frisches oder in Alkohol aufbewahrtes Splintholz untersuchen. Im Kernholz sind auch an solchem Untersuchungsmaterial die großen Hoftüpfel einseitig durch die Schließhaut abgeschlossen. Aus-

[1]) Über Präparationsmethoden, mit deren Hilfe die feineren Einzelheiten in der Struktur der Siebtüpfel besonders deutlich sichtbar zu machen sind, vgl. A. W. HILL, Ann. of Bot., Bd. XXII, 1908, S. 258 ff., und Reg. IV Siebtüpfel.

[2]) Vgl. E. RUSSOW, Bot. Zentralbl., Bd. XIII, 1883, Nr. 1—5.

gespannt tritt uns die Schließhaut aber stets in den kleineren Hoftüpfeln der engeren, dickwandigeren Tracheïden entgegen, wo der Torus außerdem nicht flachscheibenförmig, wie in den größeren Hoftüpfeln, sondern bikonvex-linsenförmig ist[1]). Aus dem Bau und dem Verhalten der Schließhäute scheint zu folgen, daß sie Klappenventile sind. Die Tracheïden des Frühholzes im Splint, die vorherrschend das Wasser führen, das je nach Bedürfnis in dieser oder jener Richtung sich bewegen soll, weisen Hoftüpfel mit schlaff ausgespannter Schließhaut auf, deren Torus der einen oder der anderen Mündung angedrückt werden kann, um sie zu verschließen; das lufthaltige Kernholz zeigt hingegen einen festen Verschluß der einen Tüpfelmündung durch den dieser Mündung angedrückten Torus. Bei median ausgespanntem Torus kann das Wasser leicht den aus radial gerichteten Lamellen aufgebauten Saum der Schließhaut durchwandern[2]).

Werden Querschnitte durch Kiefernholz in Javellesche Lauge gelegt und hinreichend lange deren Einwirkung überlassen, so sind die Holzstoffe aus den verholzten Membranen entfernt, und es läßt sich mit Chlorzinkjodlösung die Blaufärbung der zurückgebliebenen Zellulose erzielen[3]). Ebenso gelingt es, aus den verholzten Zellwänden die Verholzungsstoffe durch das Schulzesche Mazerationsgemisch (vgl. S. 258) zu entfernen und Blaufärbung durch Chlorzinkjodlösung oder die anderen, die Zellulose blau oder violett färbenden Jodpräparate (vgl. S. 171) zu erreichen. Wie die Entwicklungsgeschichte lehrt, werden die verholzenden Zellwände überhaupt zunächst aus Zellulose, bzw. Zellulose und Pektinstoffen erzeugt und erst weiterhin die Verholzung durch Einlagerung der Holzsubstanzen, bzw. auch mineralischer Stoffe, vollzogen. Diese verbinden sich mit Zellulose-Teilchen und verhindern ihre Chlorzinkjodlösung-Reaktion. Die Holzsubstanzen sollen dabei im übrigen, ähnlich wie Kalkphosphat und Leim in den Knochen, mit der Zellulose mechanisch durchwachsen sein, so daß nach Hydrolyse mit 72-proz. Schwefelsäure und darauffolgendem Wasserzusatz die zurückbleibenden Holzsubstanzen unter dem Mikroskop vollständig die Struktur der Zellmembran aufweisen[4]). — Was den Wert der Chlorzinkjodlösung als Holzreagens angeht, so färben sich mit ihr sehr viele Substanzen gelbbraun, ohne verholzt zu sein; ein Schluß auf Verholzung darf also aus dieser Reaktion an sich noch nicht gezogen werden[5]).

Mit schön violetter Färbung treten die Schließhäute der Hoftüpfel hervor, wenn man sowohl Längs- als auch Querschnitte durch Kiefernholz etwa 15 Min. lang in Hämalaun legt und sie dann in Wasser abspült, in Alkohol entwässert, mit Nelkenöl aufhellt und evtl. in Kanadabalsam einschließt[6]). Der Torus ist dunkler, die dünnen Teile der Schließhaut heller gefärbt. Sehr schöne Färbungen der Schließhäute der Hoftüpfel mit deutlichem Vortreten des Torus, auch an Querschnitten, liefert Rutheniumrot[7]). Auf sehr zarten Querschnitten kann man in beiden Fällen auch die Mittellamellen zwischen den Holzzellen violett, bzw. karminrot gefärbt sehen. Diese Färbung leistet auch an andern Objekten bei der Färbung der Mittel-

[1]) E. Russow, Bot. Zentralbl., Bd. XIII, 1883, S. 61.

[2]) E. Russow, Ebenda, S. 96 und 106.

[3]) L. Mangin, Bull. de la Soc. bot. de France, Bd. XXXV, S. 421.

[4]) J. Koenig, Chem. Ztg., Bd. XXXVI, 1912, S. 1101.

[5]) Vgl. H. Schellenberg, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXIX, 1896, S. 248.

[6]) A. Zimmermann, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. IV, S. 217. Über Dauerfärbung der Hoftüpfel s. Reg. IV Hoftüpfel.

[7]) L. Dippel, Mikroskop, II. T., 2. Aufl., 1898, S. 202. 220.

lamellen die entsprechenden Dienste, und sind letztere dort vielfach leichter noch festzustellen. Außer den Mittellamellen zwischen älteren Zellen werden die Wände im Kambium gefärbt, bei Anwendung von Hämatoxylin auch alle unverholzten Zellulosewände, bei Anwendung von Rutheniumrot alle jene Verdickungsschichten der Zellen, die Pektinsäureverbindungen enthalten. Auf die Hämatoxylin- oder Rutheniumrot-Färbung kann man eine solche mit Methylgrün folgen lassen und so die verholzten Wände färben[1]. Nur muß man die Zeit der Einwirkung richtig bemessen, damit der rote Farbstoff nicht in der Methylgrünlösung ausgezogen werde. Im besonderen sind Längsschnitte durch Kiefernholz, mit Rutheniumrot und Methylgrün gefärbt, in dem Färbungsgegensatz, den die Schließhäute und die verholzten Zellwände bieten, sehr belehrend. Lassen wir zarte Querschnitte durch Kiefernholz in Salzsäure-Alkohol (1 T. Salzsäure, 3 T. Alkohol) mindestens 24 Std. lang mazerieren, behandeln dann die Schnitte nach dem Auswaschen längere Zeit mit Ammoniak, so sind die Mittellamellen gequollen. Wäscht man aus und färbt mit Rutheniumrot, bzw. mit Rutheniumrot und Methylgrün, so treten die Mittellamellen deutlich rot gegen die grünen Verdickungsschichten hervor. Bei solchen Präparaten ist auch mehr oder weniger deutlich im Anschluß an die Mittellamellen die primäre Verdickung der Zelle oder primäre Wandung an ihrer stärkeren Lichtbrechung zu erkennen. Auf diese dünne Wand folgen die dicken, sekundären Verdickungsschichten und endlich wieder die stärkere lichtbrechende, dünne, tertiäre Verdickungsschicht, das Grenzhäutchen[2].

Die genannten Reaktionen beruhen nicht auf der Existenz eines einheitlichen chemischen Körpers, wie man ihn früher annahm und Lignin nannte, sondern auf der Einlagerung verschiedener Stoffe, insbesondere, nach Czapek, eines aromatischen Aldehyds, des Hadromals, über dessen Natur man noch nicht zur Einigung gelangt ist[3].

Eine von dem Czapekschen Hadromal unabhängige Holzreaktion, die auch nach dessen Entfernung sich einstellt, der somit ein anderer Stoff zugrunde liegen muß, hat Mäule beschrieben[4]. Um sie zu erlangen, bringt man die Schnitte in eine 1-proz. Lösung von Kaliumpermanganat, in der sie kürzere oder längere[5] Zeit liegen bleiben und gelb bis braun werden. Dann wäscht man sie oberflächlich mit Wasser ab und überträgt sie in verd. Salzsäure, wo sie sich in 2—3 Min. aufhellen, setzt einen Tropfen Ammoniak zu oder hält die Schnitte über die Öffnung einer Ammoniakflasche, wobei die verholzten Teile bald rot werden. Bei Koniferenholz tritt die Manganatreaktion nur verhältnismäßig schwach ein.

Die Mäulesche Reaktion, die nach der Ansicht von Géneau de Lamarlière durch bei der Oxydation sich bildendes Ligninoxyd bedingt ist[6], hat sich zum Nachweis verholzter Membranen als sehr zuverlässig

[1]) L. Dippel, Das Mikroskop, II. T., 2. Aufl., 1898, S. 221.

[2]) Vgl. L. Dippel, l. c. 1898, und L. Gaucher, Ét. gén. de la membrane cellulaire chez les végétaux, Paris 1904, S. 189 ff.

[3]) Fr. Czapek, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. XXVII, S. 141 ff., ferner Biochemie, 2. Aufl., Bd. I, 1913, S. 691, bzw. 3. Aufl., 1922, ebenda, und Zeitschr. f. Bot., Bd. III, 1911, S. 500. Dazu V. Grafe, Sitzber. K. Akad. Wiss. Wien, Math.-Nat. Kl., Bd. CXIII, Abt. I, 1904; O. Richter, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXII, 1905, S. 378 ff.; P. Klason, Schriften Ver. Zellstoff- und Papier-Chemie, 1911.

[4]) C. Mäule, Fünfstücks Beitr. z. wiss. Bot., Bd. IV, 1900, S. 166.

[5]) L. Géneau de Lamarlière, Rev. gén. de Bot., Bd. XV, 1903, S. 153.

[6]) Ebenda, 1903, S. 159.

erwiesen; sie ist in vielen Fällen selbst da von Erfolg begleitet, wo die Phlorogluzin-Salzsäureprobe versagt[1]). An die Stelle des Kaliumpermanganats können auch andere oxydierende Mittel treten. So gibt nach GÉNEAU DE LAMARLIÈRE[2]) 5-proz. Chromsäure gute Ergebnisse (Rotfärbung), ferner das HOFFMEISTERsche Reagens (eine gesätt. Kaliumchloratlösung, in die man verd. Salzsäure gießt), das auch für die Gymnospermen mit Ausnahme der Gnetaceen sich als brauchbar erwies. Die Salzsäure wirkt am besten, kann aber durch andere Säuren bis zu einem gewissen Grade ersetzt werden. Ebenso können an Stelle des Ammoniaks andere Alkalien treten. — Von COMBES[3]) wird folgendes Verfahren zum Nachweis der Verholzung in Membranen empfohlen: Die während weniger als 1 Std. mit Eau de JAVELLE behandelten Schnitte werden sorgfältig ausgewaschen, dann in eine Flasche mit weiter Öffnung gebracht, die 1 g Zinkoxyd in 30 ccm Wasser suspendiert enthält. Das Ganze wird $^1/_2$ Std. lang in kochendem Wasserbad gehalten, dann werden die Schnitte ausgewaschen und in frischbereitetes gesätt. Schwefelwasserstoffwasser gebracht. Nach 5 Min. langer Einwirkung werden sie wiederum ausgewaschen, auf den Objektträger gebracht und mit Deckglas bedeckt; seitlich wird dann ein Tropfen konz. Schwefelsäure zugegeben. In allen verholzten Partien tritt nun eine intensive Rotfärbung auf, ähnlich der mit Phlorogluzin und Salzsäure erreichten. Die Rotfärbung spielt dann in Orangerot über, um nach 8—12 Std. in Braun sich zu vertiefen. — Besonders empfohlen wurde salzsaures Dimethylamidoazobenzol (s. Reg. IV), das ausschließlich die verholzten Membranen intensiv rot färbt[4]). — Auf das Vorhandensein von Vanillin im Holz gründet sich schließlich die folgende von GRAFE[5]) angegebene Holzreaktion: Man überschichtet unter Kühlen mit fließendem Wasser vorsichtig 30 ccm Isobutylalkohol mit 15 ccm Schwefelsäure (vom spez. Gewicht 1,84). Die Mischung färbt sich hell- bis dunkelrot, und es entwickelt sich am Geruch erkennbares Schwefeldioxyd. Schnitte, die mit diesem Reagens behandelt werden, färben sich zunächst wie die Lösung deutlich violett. Sie sollen ca. 1 Std. darin liegen bleiben. Dann werden sie in Glyzerin eingeschlossen, wo die verholzten Gewebe alsbald eine blaue Färbung annehmen. Je nach der Intensität der Verholzung spielt die Farbe nach grün oder rotviolett über. Die Präparate halten sich etwa 8 Tage[6]).

Zarte Querschnitte durch das Kiefernholz können zu lehrreichen Untersuchungen mit dem Polarisationsmikroskop verwendet werden[7]). Bei ultramikroskopischer Untersuchung erscheinen die verholzten Membranen stark leuchtend[8]).

Von Interesse ist es auch noch, jene tangentialen Längsschnitte durch das Alkoholmaterial des Kiefernstammes näher zu betrachten, die das Kambium gestreift haben. Wir sehen die Kambiumzellen dann in ihrer größten Breite und stellen die scharfe Zuspitzung ihrer

[1]) Nach den Versuchen von F. C. VON FABER, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXII, 1904, S. 117, denen zufolge Rotfärbung mit Phlorogluzin-Salzsäure nur auf die Gegenwart von Hadromal hinweist, das allerdings meist, aber nicht immer, in verholzten Membranen in mehr oder minder starkem Maße vertreten ist.

[2]) L. GÉNEAU DE LAMARLIÈRE, l. c. 1903, S. 149.

[3]) R. COMBES, Bull. soc. pharm., Bd. XIII, 1906, S. 293, 470.

[4]) Nach MENKO PLAUT, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVIII, 1910, S. 151.

[5]) V. GRAFE, Österr. bot. Zeitschr., Bd. LV, 1905, S. 174 ff.

[6]) Über weitere Reaktionen vgl. Reg. IV Verholzungsstoffe.

[7]) Vgl. H. AMBRONN in seiner auf S. 114 zitierten Anleitung S. 38 ff.

[8]) Vgl. N. GAIDUKOV, Dunkelfeldbeleuchtung und Ultramikroskopie, 1910, S. 59.

Enden fest. Kombinieren wir dieses Bild mit den Bildern, die wir im Querschnitt und im radialen Längsschnitt sahen, so können wir die Gestalt der ganzen Kambiumzelle als die eines überall rechteckigen Körpers bestimmen, dessen Tangentialwände lineal-lanzettlichen und dessen Radialwände langgestreckt-rechteckigen Umriß besitzen. Das obere und untere Ende der 1—3 mm langen Kambiumzellen wird demnach von einer radial gestellten Kante gebildet. Ihr tangentialer Durchmesser beträgt ungefähr das Doppelte bis Mehrfache des radialen[1]).

Man vermag leicht, wie wir es bei Aristolochia getan, durch Erwärmen in dem Schulzeschen Mazerationsgemisch (S. 258), das Kiefernholz in seine Elemente zu zerlegen. Aus zarten Querschnitten des Holzes lassen sich auch bei vorsichtiger Anwendung des Gemisches und darauf folgender Einwirkung von Schwefelsäure zarte Netzwerke erhalten, die nur aus den Mittellamellen (S. 266) der Tracheïden bestehen. Man muß beim Erwärmen in dem Mazerationsgemisch den Augenblick treffen, in dem die Holzstoffe bereits aus den sekundären Verdickungsschichten, aber noch nicht aus den stärker verholzten Mittellamellen entfernt sind. Läßt man nun auf die gut ausgewaschenen, auf einen Objektträger gelegten Schnitte vorsichtig konz. Schwefelsäure einwirken, so lösen sich die sekundären Verdickungsschichten auf, während das gelbbraune Netzwerk der Mittellamellen zurückbleibt. Man glaubte früher solche Präparate als Beweis für die Existenz einer besonderen Interzellularsubstanz ansehen zu können; sie erklären sich aber aus der stärkeren Verholzung der Mittellamellen. Nach vorsichtigem Auswaschen mit Wasser, das man bei geneigter Lage des Objektträgers tropfenweise über das Präparat fließen läßt, kann letzteres dauernd, am besten in Chlorkalziumlösung, aufbewahrt werden. Das Deckglas muß man mit einem Verschlußmittel (vgl. S. 125) luftdicht umkitten. — Außer den die Verholzung bedingenden Substanzen bestehen die Mittellamellen, wie wir früher schon angegeben haben, aus Pektinstoffen, über deren Natur man noch nicht zu einem abschließenden Urteil gelangt ist (vgl. S. 173ff). So läßt sich denn auch eine Trennung der Zellen in Schnitten erreichen, wenn man diese auf 24 Std. oder auch noch länger einem Gemisch von 1 T. Salzsäure mit 3—4 T. Alkohol aussetzt, hiernach in Wasser auswäscht und mit einer alkalischen Lösung eines Kali- oder Natronsalzes oder einer schwachen (etwa 10-proz.) Ammoniaklösung behandelt. Aus den Mittellamellen werden dabei die Pektinverbindungen gelöst. Durch gelinden Druck auf das unter Deckglas befindliche Präparat gelingt es dann, die einzelnen Tracheïden voneinander zu trennen[2]). Bei so behandelten, zarten Querschnitten ist jetzt an jeder Tracheïdenwandung zu äußerst die primäre Wandung, jene schwache, primäre Verdickungsschicht, welche die Tracheïden gleich nach ihrer Anlage erhielten, darunter die starke sekundäre Verdickungsschicht und, an diese anschließend, das zarte Grenzhäutchen (vgl. S. 266) deutlich zu sehen. — In mancher Beziehung noch günstiger als gewöhnliches Kiefernholz ist für Herstellung solcher Präparate das Holz von Pinus canariensis und vor allem das Holz von Pinus Strobus[3]).

Um von Holz oder sonstigen harten Geweben bis zu 5 μ dünne Serienschnitte zu erhalten, verfährt man nach der Angabe von Plowman[4])

---

[1]) Vgl. J. Klinken, Bibliotheca Botanica, 84. Heft, 1914.
[2]) L. Mangin, Compt. rend. Acad. Paris, Bd. CX, 1890, S. 295.
[3]) Vgl. auch L. Dippel, Das Mikroskop, II. T., 2. Aufl., 1898, S. 213.
[4]) A. W. Plowman, Bot. Gaz., Bd. XXXVII, 1904, S. 456.

am besten folgendermaßen: Man schneidet sich aus dem Innern eines größeren Stückes einen Keil von ca. 1 cm Durchmesser heraus, dessen Oberflächen Querschnitte, radiale und tangentiale Längsschnitte zulassen. Auch größere Blöckchen kann man verwenden, namentlich wenn es sich um weichere Hölzer handelt, wobei man jedoch die Zeit der Vorbehandlung entsprechend verlängern muß. Ist das Material tot und trocken, so befreit man es am besten durch wiederholtes Kochen und Erkaltenlassen oder mittels einer Luftpumpe von der in ihm enthaltenen Luft. Lebendes Material fixiert man am besten in einem Gemisch von 3 T. einer in 30-proz. Alkohol gesätt. Sublimat-Lösung und 1 T. einer ebenfalls in 30-proz. Alkohol gesätt. Pikrinsäure. Chromsäure und Chromsäuregemische sind zu vermeiden, da sie die verholzten Gewebe noch härter machen. Nach 24-stünd. Einwirkung muß die Fixierungsflüssigkeit durch Übertragen in 40-, 50-, 60-, 70- und 80-proz. Alkohol entfernt werden, und zwar hat das Objekt in jedem dieser Alkohole 12 oder 24 Std. zu verweilen. Dem 80-proz. Alkohol ist Jodlösung bis zur tiefen Braunfärbung beizufügen. Mäßige Hitze von 50^0 beschleunigt den Prozeß des Auswaschens. Kieselsäure und andere mineralische Substanzen sind so vollständig wie möglich aus dem Objekt zu entfernen, und zwar geschieht das mit einer 10-proz. wässr. Lösung der käufl. Fluorwasserstoffsäure, die in einer mit einer dicken Schicht harten Paraffins ausgegossenen Flasche aufbewahrt werden kann. Die Objekte bringt man zu diesem Zweck aus dem Wasser, in dem sie gekocht wurden, bzw. dem 80-proz. Jodalkohol für 3 oder 4 Tage in diese Säure, die man ein- oder zweimal wechselt und öfters umschüttelt. Dann wäscht man die Säure sorgfältig 2—4 Std. in fließendem Wasser aus. Alle mineralischen Bestandteile sind damit aus dem Objekt entfernt, während das Protoplasma nicht angegriffen wird. Durch aufeinanderfolgendes, je 12-stünd. Verweilen in Alkokol von 30, 50, 70, 90 $^0/_0$ und Alk. abs. muß nun das Wasser wieder entfernt werden, wobei man, um eine möglichst vollkommene Entwässerung zu erreichen, den Alk. abs. wenigstens einmal wechselt. Die im Objekt etwa noch enthaltene Luft wird in dem Stadium, wo es sich im 70-proz. Alkohol befindet, durch Aussaugen mit einer Luftpumpe entfernt. Nun erfolgt eine Durchtränkung mit Zelloidin. Hierfür stelle man sich eine Serie von Zelloidinlösungen her, indem man das käufl. *Schering*sche Zelloidin in 10 Verdünnungsgraden mittels Äther und Synthol oder Äther und Alk. abs. (beidesmal zu gleichen Teilen) löst. Man bereitet sich eine 2-, 4-, 6-, 8-, 10-, 12-, 14-, 16-, 18- und 20-proz. Lösung; eine 22- und 24-proz. kann man mit Vorteil sich noch dazu herstellen. Diese Lösungen können mehrmals gebraucht werden. Man bewahrt die Flaschen liegend auf, um ein Verdunsten des Lösungsmittels und damit eine Konzentration der Lösung zu verhindern. Um eine gute Durchtränkung der Objekte zu erreichen, bringt man sie aus dem Alk. abs. in eine gut verschließbare Flasche mit der 2-proz. Zelloidinlösung, die möglicht gut zu füllen und deren Stopfen mit Draht oder Klammern zu befestigen ist, lege sie für 12 oder 18 Std. in einen Paraffinofen von 50—60^0 Hitze; kühle sie dann schnell in kaltem Wasser ab, wobei man dafür Sorge trage, daß kein Wasser in die Flasche eindringe. Dann bringe man an Stelle der 2-proz. die 4-proz. Lösung und verfahre in gleicher Weise wie vorhin bei Überführung in die höher proz. Lösungen. Ist der höchste Konzentrationsgrad erreicht, so füge man von Zeit zu Zeit kleine Späne trockenen Zelloidins hinzu, bis die Mischung in der Flasche steif und fest ist. Mit

einer Zange werden nun die Blöckchen samt anhängender Zelloidinhülle aus der Flasche geholt und zur Härtung für 12 Std. in Chloroform gebracht. Aus diesem gelangen sie in ein Gemisch von gleichen Teilen 95-proz. Alkohols und Glyzerins, in dem sie einige Tage bis zum Schneiden bleiben und worin sie auch weiter aufbewahrt werden können. Die für den Durchtränkungsprozeß angegebenen Zeiten lassen sich nur bei ganz kleinen Objekten abkürzen. Eine Verlängerung ist in vielen Fällen anzuraten. Am besten schneidet man die Blöcke mit dem *Thoma-Jung*schen Mikrotom. Das Messer muß eine scharfe, glatte, nicht zu dünne Schneide besitzen und gegen das zu schneidende Objekt schräg gerichtet sein, so daß Schneide und vordere Objektkante einen Winkel von 10° bilden. Sehr harte und große Blöcke müssen in dem besonders dafür von *Jung* verfertigten Objekthalter eingespannt werden. Kleinere und nicht zu harte Objekte lassen sich an dem Halter anbringen, der aus einer kleinen, mit einem harten Holzpflock versehenen Metallröhre besteht (s. S. 80). Das Ende dieses Pflockes wird vorher durch wiederholtes Eintauchen in 4-proz. Zelloidin mit diesem vollständig bedeckt und dann im Paraffinofen getrocknet. Mittels eines Tropfens des 4-proz. Zelloidins wird das zu schneidende Objekt darauf befestigt, nachdem diejenige seiner Flächen, die der feuchten Oberseite des Halters aufgesetzt wird, geglättet und vom Glyzerin befreit worden ist. In wenigen Minuten wird es dann festhaften. Nun schneide man vorsichtig durch Führen des Messers gegen das Objekt nach und nach den Überschuß hinweg, stelle die Mikrometerschraube auf 10 μ — sollen die Schnitte mikrophotographiert werden, auf 5 μ — Schnittdicke ein, betropfe mittels eines Haarpinsels die Schneide mit 90-proz. Alkohol und führe das Messer durch das Objekt. Die Schnitte lege man zunächst für 15 Min. in Äther, wodurch das Zelloidin herausgelöst wird, wasche sie in 95-proz. Alkohol aus, überführe sie dann, falls sie gefärbt werden sollen, durch reines Wasser in die Farblösung, die man zur Anwendung bringen will, und schließe sie auf dem bekannten Wege in Kanadabalsam ein. Will man die Schnitte in Serien auf dem Objektträger anordnen, so nehme man statt des 90-proz. Alkohols zum Betropfen der Messerschneide eine Mischung von 85 T. 90-proz. Alkohol und 15 T. Glyzerin, lege die Schnitte der Reihe nach auf ein Stückchen dünnes, leichtes Papier, wende nach Verdunsten des Alkohols das Papierblättchen um und lege es auf einen mit Eiweiß-Glyzerin eingeriebenen Objektträger. Dann bringe man noch einige Lagen Papier darauf und drücke mit Hilfe einer zum Glätten von Photographien dienenden Kautschukrolle das Ganze fest an, lege einen zweiten Objektträger auf, klemme beide mittels Klammer oder ähnlicher Vorrichtungen zusammen und bringe sie für nicht mehr als 12 Std. in den Paraffinofen. Ein längeres Verweilen in der Wärme macht das Zelloidin mehr oder weniger unlöslich. Nun kann das Papier entfernt werden, wobei die Schnitte sich dem Objektträger fest angepreßt zeigen. Dann werden die Präparate durch Alkohol, Äther, Alkohol, Färbeflüssigkeiten usw. in das Einschlußmedium überführt.

Ähnlich wie PLOWMAN verfährt auch BAILEY[1]), um dünne Schnitte durch Holz zu erhalten. Nur wendet er zum Entfernen der mineralischen Bestandteile aus härteren Hölzern eine stärkere Lösung der Fluorwasserstoffsäure (1 T. auf 1 T. Wasser) an, in der er die Stücke etwa 2 Wochen liegen läßt. Für sehr harte Hölzer empfiehlt er sogar ein 2—3 Wochen langes Verweilenlassen in der unverdünnten käuflichen Fluorwasserstoffsäure.

[1]) J. W. BAILEY, Bot. Gaz., Bd. IL, 1910, S. 57.

Nach gründlichem Auswaschen in fließendem Wasser überträgt er die Stücke für mehrere Tage in eine Mischung von 1 T. 30-proz. Alkohol und 1 T. Glyzerin und stellt dann schon die Mikrotomschnitte, ohne Einbettung in Zelloidin, her. Ganz kleine Objekte lassen sich allerdings auch nach seinem Vorschlag am besten in Zelloidin scheiden, man kann aber dabei ein vereinfachtes Verfahren zur Anwendung bringen, indem man sie mittels 4-proz. Zelloidins dem Block des Halters aufklebt und mehrfach überstreicht. Ganz weiche Hölzer können auch direkt nach dem Kochen, also ohne Behandlung mit Fluorwasserstoffsäure, geschnitten werden, doch muß man dabei das Messer öfters schleifen. Färbung ist in vielen Fällen nicht nötig. Man schließt dann die ungefärbten Schnitte einfach in Glyzerin-Gelatine ein. — Harte Hölzer lassen sich auch in Gelatine eingebettet mit dem Mikrotom schneiden[1]). Zu dem Zweck wird die Gelatine zunächst bis zur Sättigung in Wasser eingeweicht. Nachdem das überschüssige Wasser abgelaufen ist, erwärmt man sie, bis sie sich ganz gelöst hat. Vorher in Wasser oder, wenn nötig, in Fluorwasserstoffsäure aufgeweichte Stückchen des Holzes werden für einige Stunden in diese Gelatinelösung gebracht, ebenso kleine Blöcke von hartem Holz, welche als Träger am Mikrotom fungieren sollen, und die zu schneidenden Stückchen in der Gelatine genau auf den Tragblöckchen orientiert. Man läßt dann die Gelatine erkalten und fest werden. Nachdem das Ganze in starkem Formalin gehärtet ist, läßt das Objekt sich mit dem Mikrotom schneiden. Das Messer muß dabei mit Wasser benetzt werden. Diese Methode hat den Vorzug, daß sich mit ihr sehr schnell arbeiten läßt und die Schnitte nicht auseinanderbröckeln.

Wünscht man eine besonders gute Färbung solcher Mikrotomschnitte aus Holz durchzuführen, so verwende man die von Plowman[2]) empfohlene Doppelfärbung mit Hämatoxylin-Safranin. Die Schnitte werden zunächst in eine wässr. Lösung von Ehrlichs Hämatoxylin gebracht, bis eine tiefe Purpurfärbung erreicht ist. Dann wäscht man in einer wässr. Lösung von Kalzium- oder Natrium-Karbonat, ferner zweimal in Aq. dest. aus, fügt dem letzten Aq. dest. einige Tropfen alkohol. Safranin-Lösung hinzu und läßt diese Präparate 1 oder 2 Std. in dieser Mischung. Darauf sind sie direkt in Alk. abs. zu übertragen, schnell zu entwässern und in Xylol oder Benzol oder Chloroform zu bringen und schließlich in Kanadabalsam, der in demselben Mittel, also entweder Xylol oder Benzol oder Chloroform, gelöst sein muß, mit dem auch die Vorbehandlung zum Einschließen geschah.

[1]) W. J. G. Land, Bot. Gaz., Vol. LIX, 1915, S. 400.
[2]) A. W. Plowman, l. c. 1904, S. 459.

XI. Abschnitt.

Bau des Lindenstammes.

Länge der Gefäße. Bau des Robinienstammes. Thyllen. Ablagerungen von Kalziumkarbonat.

Untersuchungsmaterial.

Stamm- und Zweigstücke von Tilia parvifolia. Zweige, 5 mm dick, frisch; so auch dickere Aststücke, frisch; Stücke aus einem möglichst starken Stamm, vom Holzkörper bis zur Oberfläche reichend, in Alkohol aufbewahrt, dann für die Untersuchung durch Einlegen in gleiche Teile von Alkohol und Glyzerin vorbereitet.

Stammstücke von Robinia Pseudacacia, Alkoholmaterial.

Wichtigste Reagentien.

Jodglyzerin. — Chlorsaures Kali. — Salpetersäure. — Chromsäure.

Als weiteres Untersuchungsobjekt wählen wir die Linde (Tilia parvifolia). Der Querschnitt durch einen etwa vierjährigen Zweig zeigt uns bei Lupenbetrachtung (Fig. 131) die das Mark (*m*) umgebenden Jahresringe mit deutlich markierten Jahresgrenzen (*g*), den Kambiumring (*c*), der den Holzkörper vom Bast (*cr*) trennt, die primären (*pm*) und sekundären (*sm*) Markstrahlen, welche Holzkörper und Bast radial durchsetzen, die erweiterten Enden der primären Markstrahlen (*pm'*) zwischen den Basträngen und in der Umgebung dieser die primäre Rinde (*pr*). Bei stärkerer Vergrößerung sehen wir an demselben Querschnitt im Mark große lufthaltige Zellen, die um andere kleine, mit feinkörnigem, braunen Inhalt erfüllte, rosettenförmig angeordnet sind. In den äußeren Teilen des Marks liegen Gummibehälter, die Höhlungen in dem parenchymatischen Gewebe bilden, doch bereits inhaltsleer sind. An seinem äußersten Rand ist das Mark kleinzellig, die Zellen mit feinkörnigem Inhalt erfüllt. In dieses kleinzellige Gewebe ragen die primären Vasalteile der Leitbündel hinein. Ihre mit abrollbaren Leisten versehenen Schraubentracheïden fallen vermöge ihrer

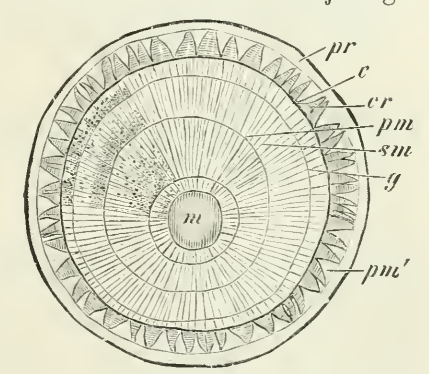


Fig. 131. Querschnitt durch einen im vierten Jahr stehenden Zweig der kleinblättrigen Linde (Tilia parvifolia). *pr* primäre Rinde, *c* Kambiumring, *cr* Bast, *pm* primäre Markstrahlen, *pm'* äußeres erweitertes Ende eines primären Markstrahls, *sm* sekundärer Markstrahl, *g* Jahresgrenze. Vergr. 6.

hier und da hervortretenden spiraligen Verdickungsbänder schon im Querschnitt auf. Wir zählen die Jahresringe ab, die in aufeinanderfolgenden Jahren sehr verschieden stark sein können. In einem jeden Jahresring werden zunächst weite Gefäße in großer Zahl erzeugt; sie sind es, die vor allem die Jahresgrenze markieren. Weiterhin entstehen die weiten Gefäße nur vereinzelt oder in vereinzelten Gruppen; in den letzten Phasen der Vegetation bildet das Kambium nur englumige Elemente. Jenseits des Kambiums sieht man die sich keilförmig nach außen zuspitzenden Bastteile. In ihnen ist eine Abwechslung tangential verlaufender, weißer und dunkler Streifen festzustellen. Die glänzend weißen Streifen werden von den zahlreichen, fest zusammengefügten Bastfasern gebildet, deren Wände so stark verdickt sind, daß ihre Lumina nur noch als schwarze Punkte erscheinen. Diese Streifen zeigen unregelmäßige Umrisse, können auch wohl stellenweise unterbrochen sein. Die dunkleren Streifen zwischen ihnen bestehen aus englumigeren, sich vornehmlich an die Bastfasern anlehnenden, stärkeführenden Bastparenchymzellen und aus weitlumigen Siebröhren, die von engen Geleitzellen begleitet werden. Man wird ungefähr doppelt so viel sekundäre Bastfaserstreifen zählen können, als Jahresringe im Holz vorhanden sind; denn es entstehen, die beiden ersten Jahre ausgenommen, zwei Bastfaserstreifen annähernd regelmäßig in jedem Jahr. Die primären Markstrahlen im Holzkörper sind meist zwei, hin und wieder auch mehr Zellagen stark; die sekundären Markstrahlen weisen entweder auf ihrem ganzen Längsverlauf nur eine Zellage auf, oder sie sind nur von ihrem Beginn an einige Jahresringe hindurch so schmal, um sich nach der Peripherie des Stammes hin zu verbreitern und wie die primären Markstrahlen mehrere Zellagen dick zu werden. Sie lassen sich durch das Kambium bis zur primären Rinde bzw. bis in den Bast hinein verfolgen. Die Enden der primären und einzelner sekundärer Markstrahlen erweitern sich keilförmig und trennen die einzelnen Baststränge. Den Zentralzylinder umgibt die lebhaft grüne primäre Rinde. In den äußeren Teilen der Markstrahlen und in der primären Rinde fallen zahlreiche Kristalldrusen auf. Es folgen nach außen die chlorophyllhaltigen, an ihren weißen, besonders in den Ecken stark verdickten Wänden leicht kenntlichen Kollenchym-

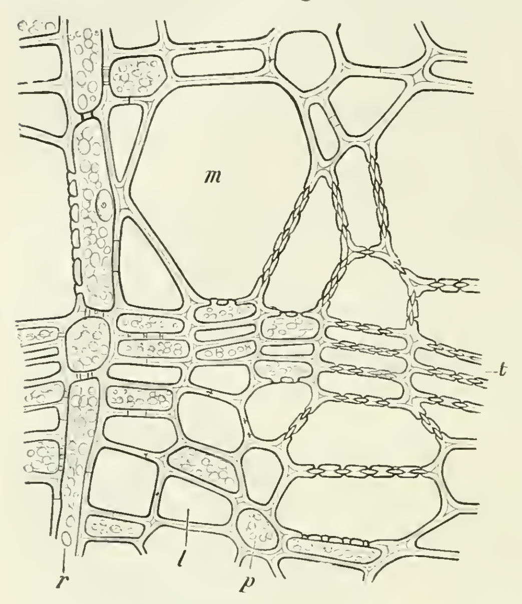


Fig. 132. Querschnitt durch das Holz von Tilia parvifolia (Alkoholmaterial). *m* ein weites Tüpfelgefäß, *t* Tracheïden, *l* Holzfaser, *p* Holzparenchym, *r* Markstrahl. Vergr. 540.

zellen. Die Oberfläche des Stammes wird endlich von einem regelmäßig entwickelten Periderm eingenommen, dessen flache Zellen ihrem Alter entsprechend, also von innen nach außen, brauner werden.

Für ein näheres Studium des Holz- und Bastkörpers empfiehlt es sich wieder, in Alkohol eingelegte Stücke aus einem möglichst dicken Stamm zu benutzen. Auch diese Stücke legen wir vorteilhaft tags zuvor in ein Gemisch gleicher Teile Alkohol und Glyzerin ein. Wir untersuchen sie in Jodglyzerin und finden dabei alle Elemente wesentlich größer als in den dünnen Zweigen. Das Holz der Linde besteht aus Gefäßen, Tracheïden, Holzfasern und Holzparenchym (Fig. 132). Die Gefäße sind durch die Größe ihres Durchmessers ausgezeichnet (*m*). Sie, wie auch die Tracheïden (*t*), zeigen, soweit sie an andere Gefäße und Tracheïden stoßen, doppelt behöfte Tüpfel. Die Holzfasern (*l*) fallen durch ihre sehr spärliche und äußerst feine Tüpfelung auf. Von allen diesen Elementen unterscheiden sich die Holzparenchymzellen (*p*) durch ihren protoplasmatischen Inhalt bzw. auch durch die Stärkekörner, die sie führen. — Im Bast (Fig. 133) treten besonders die Bastfasern (*l*) hervor; an diese grenzen Bastparenchymzellen (*p*), die meist reichliche Stärke, an der Innenseite der Bastfasern aber Kristalle (*k*) enthalten, und dann folgen die weitlumigen Siebröhren (*v*) mit ihren Geleitzellen (*c*). Diese Geleitzellen werden meist in Einzahl von einer Seitenkante der Siebröhre abgeschnitten. Man stellt fest, daß sie für gewöhnlich an eine Bastparenchymzelle oder eine Markstrahlzelle stoßen. Wo der Schnitt eine Siebplatte (v^+) getroffen hat, fällt sie durch ihre starke Lichtbrechung, ihre Poren und ihre durch das Jod bewirkte Färbung auf. Auch bei Tilia konstatieren wir, daß in einiger Entfernung vom Kambium die Siebröhren und Geleitzellen ihren Inhalt verloren haben.



Fig. 133. Querschnitt durch den Bast von Tilia parvifolia (Alkoholmaterial). *v* Siebröhre, bei $v+$ eine Siebplatte getroffen, *c* Geleitzelle, *p* Bastparenchym, *k* kristallführende Zelle, *l* Bastfasern, *r* Markstrahl. Vergr. 540.

An dem radialen Längsschnitt, den wir ebenfalls in Jodglyzerin untersuchen, bemerken wir zunächst die Gefäße und Tracheïden, die außer den Hoftüpfeln an ihren Wänden auch noch dünne Schraubenbänder als innerste Verdickung besitzen. Gefäße und Tracheïden sind

durch alle Zwischenformen mit einander verbunden, und nur das Verhalten ihrer Terminalwände, ob von einer runden Öffnung durchbrochen oder durch Hoftüpfel geschlossen, entscheidet darüber, ob wir es mit einem Gefäß oder mit einer Tracheïde zu tun haben. Die Hauptmasse des Holzes bilden die langen, an den Enden zugespitzten Holzfasern, deren Wände mit kleinen, links aufsteigenden, spaltenförmigen Tüpfeln versehen sind. Wie die Gefäße und Tracheïden, sind auch die Holzfasern ohne protoplasmatischen Inhalt. Während aber Gefäße und Tracheïden die Wasserleitung besorgen, enthalten die Holzfasern in frisch untersuchtem Holz Luft und dienen nur dazu, die mechanische Festigkeit des Holzkörpers zu erhöhen. Die Holzparenchymzellen

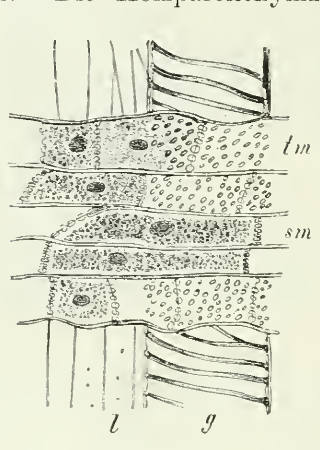


Fig. 134.

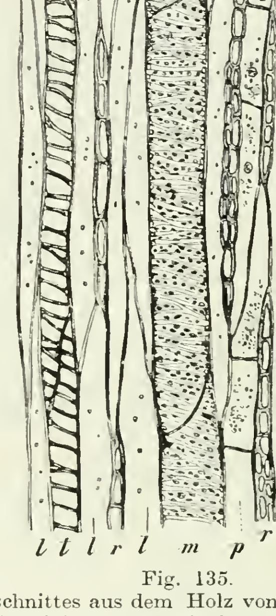


Fig. 135.

Fig. 134. Kleines Stück eines radialen Längsschnittes aus dem Holz von Tilia parvifolia mit einem kleinen Markstrahl. *g* Gefäß, *l* Holzfasern, *tm* mit den Wasserbahnen durch Tüpfel verbundene Markstrahlzellen, *sm* der Leitung der Assimilate vornehmlich dienende Markstrahlzellen. Vergr. 240.

Fig. 135. Tangentialer Längsschnitt aus dem Holz von Tilia parvifolia. *m* Tüpfelgefäß, *t* mit Schraubenbändern versehene Tracheïden, *p* Holzparenchym, *l* Holzfasern, *r* Markstrahlen. Vergr. 160.

folgen in ununterbrochenen Zügen aufeinander. Sie sind kurz, durch einfach getüpfelte Wände getrennt, mit protoplasmatischem Inhalt und meist auch mit Stärke erfüllt. — Die quer zu diesen Elementen des Holzkörpers verlaufenden Markstrahlen (Fig. 134) zeigen sich verschieden stark ausgebildet. Die Ränder dieser Markstrahlen sind meist von kürzeren oder höheren Zellen (*tm*) eingenommen, und man stellt fest, daß diese es allein sind, die durch große, zahlreiche Tüpfel mit den Gefäßen zusammenhängen. Einschichtige Markstrahlen können von höheren Zellen ausschließlich gebildet sein. Die mit den Gefäßen durch Tüpfel verbundenen Markstrahlzellen fallen durch Stärkearmut auf. — Im Bast bemerken wir vor allem die sehr langen, glänzenden Bastfasern; wir finden die stärkeführenden, auch die kristall-

führenden Bastparenchymzellen wieder; dann die Siebröhren, deren tangential geneigte Siebplatten durch Streifen in einzelne Siebtüpfel zerlegt sind. Die schmalen Geleitzellen zeichnen sich durch ihren reichen Inhalt aus. Jenseits des Bastkörpers tritt uns das Kollenchym mit den verdickten weißen Kanten entgegen, sowie die Korkzellen, deren Längsschnitt genau ihrem Querschnitt gleicht.

Der tangentiale Längsschnitt durch den Holzkörper (Fig. 135) führt uns die nämlichen Elemente vor, wie der radiale, doch zeigen sich die Markstrahlen durchschnitten. In solcher Ansicht erscheinen sie (*r*) spindelförmig, sehr ungleich hoch, in ihrer ganzen Höhe einschichtig, oder auch in ihrer Mitte mehrschichtig. Die Interzellularen fehlen zu den Seiten einschichtiger Markstrahlen fast vollständig; in den mehrschichtigen sind sie nur zwischen den inneren Zellen ausgebildet. — Der tangentiale Längsschnitt im Bast weist in betreff der Markstrahlen dieselben Verhältnisse auf, kann außerdem, ebenso wie der tangentiale Längsschnitt, durch den Holzkörper dazu dienen, uns den geschlängelten Verlauf der Elemente, die den Markstrahlen ausweichen müssen, zu zeigen.

Wir wollen auch versuchen, die den Lindenstamm aufbauenden Elemente durch das Schulzesche Mazerationsverfahren (vgl. S. 258) voneinander zu trennen. Wir übergießen auch dieses Mal zunächst in einem weiten Reagensglas einige Stückchen chlorsaures Kali mit so viel Salpetersäure, daß sie bedeckt werden, legen dann ziemlich dicke, radiale Längsschnitte aus dem Lindenstamm hinein und erwärmen vorsichtig über einer Flamme, bis lebhafte Gasentwicklung eintritt. Dann lassen wir das Reagens noch einige Minuten einwirken und gießen alles zusammen in eine große Schale mit Wasser. Dieser entnehmen wir, wie in früheren Fällen, die Schnitte vorsichtig mit einem Glasstab, übertragen sie in ein anderes Gefäß mit Wasser und bringen sie aus diesem endlich in einen Wassertropfen auf den Objektträger. Es folgt eine Zerfaserung des Schnittes mit Nadeln in der Längsrichtung, was auch hier unschwer gelingt. Wir finden alsdann die Elemente isoliert wieder, die wir zuvor im Zusammenhang sahen. Sie sind meist gut erhalten, ihrer Holzstoffe aber beraubt, so daß sie sich nach Zusatz von Chlorzinkjodlösung blau färben[1]).

In solchen Mazerationspräparaten des Lindenstammes treten uns die Holzfasern besonders massenhaft entgegen (Fig. 136 *A*, *B*). Die Quellung der Wände bewirkt jetzt, daß ihre Tüpfel noch winziger erscheinen; sie steigen schräg spaltenförmig auf. Die kurzen Parenchymzellen sind an ihrem Inhalt kenntlich. Wir finden sie getrennt, oder, ihrem Ursprung aus einer Kambiumzelle entsprechend, zu kurzen Fäden verbunden (*C*). Überall liegen sie zwischen den Holzfasern zerstreut. Es fallen uns weiter in geringerer Anzahl mit Schraubenbändern versehene Tracheïden auf. Ihre Gestalt nähert sich entweder mehr jener der Holzfasern (*E*), oder jener der Gefäße (*D*). Endlich fehlen in unserem Präparat auch nicht die Gefäße, und zwar sind sie z. T. in Abschnitte zerfallen (*F*), oder sie bilden längere Röhren. Durch ganz besondere Länge zeichnen sich unter allen diesen Elementen die in feine, spitze Enden auslaufenden, mit äußerst engem Lumen versehenen Bastfasern (*G*) auf.

[1]) Wegen anderer Mazerationsverfahren vgl. S. 259, auch S. 275, ferner Reg. IV.

Die Länge der Gefäße in den Pflanzen läßt sich durch Quecksilber bestimmen[1]), indem man mit dem oberen Querschnitt des zu untersuchenden Stammstücks einen passenden Trichter verbindet, in den Quecksilber eingegossen wird. Man stellt dann mit der Lupe am unteren Querschnitt die Zahl der Gefäße fest, welche das Quecksilber durchlassen, kürzt hierauf den Pflanzenteil immer mehr und kontrolliert jedesmal die nunmehr das Quecksilber durchlassende Gefäßzahl. Ein anderes Verfahren[2]) besteht darin, daß man eine käufliche Lösung

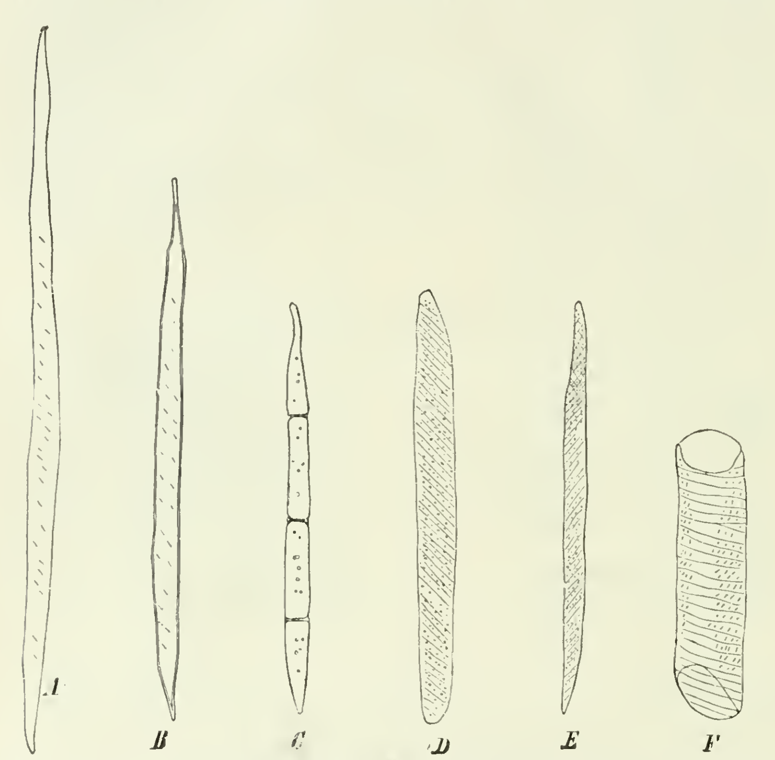


Fig. 136. Tilia parvifolia. Durch Mazeration isolierte Elemente aus dem Holz und Bast. *A* und *B* Holzfasern (Libriform); *C* Holzparenchym; *D* und *E* Tracheïden; *F* Gefäßglied; *G* Bastfaser. Vergr. 180.

von „dialysiertem Eisen" mit dem dreifachen Volumen Wasser verdünnt und mit Hilfe einer Wasserstrahlluftpumpe durch den Pflanzenteil saugt. Da das Eisenoxychlorid als kolloidaler Körper nicht durch Membranen, auch nicht durch Hoftüpfel geht, so dringt es in jedem Gefäß nur bis zu der ersten geschlossenen Wand vor. Wird, nachdem die Saugung etwa 1 Std. anhielt, das freie Zweigende in Ammoniak (1 T. offizin. Salmiakgeist und 3 T. Wasser) getaucht und so lange weiter gesogen, bis die oben austretende Flüssigkeit intensiv nach Ammoniak riecht, so ist alles Eisensalz als braunrotes Eisenoxydhydrat in den Gefäßen gefällt und läßt bei darauffolgender mikroskopischer Unter-

[1]) E. Strasburger, Leitungsbahnen, 1891, S. 510.
[2]) A. Adler, Diss., Jena 1892, S. 10.

suchung, ja z. T. schon bei Lupenbetrachtung der Längsschnitte, die Gefäßenden leicht feststellen.

Wir wollen auch das Holz der Robinie (Robinia Pseudacacia) noch untersuchen, und zwar womöglich wieder ein peripherisches Stück aus einem nicht zu jungen Stamm[1]). Zunächst stellen wir Querschnitte her, die das Kambium in sich fassen, und durchmustern bei schwacher Vergrößerung. Da fällt uns dann sofort auf, daß die weiteren Gefäße, etwa vom drittletzten Jahresring an, mit dünnwandigem Gewebe (Fig. 137) angefüllt sind. Wir werden meist Gefäße finden können, in denen die Entstehung dieses Gewebes zu verfolgen ist. Blasenförmige Gebilde sieht man da an einer oder mehreren Stellen der Gefäßwand entspringen und in das Gefäßlumen hineinragen (bei *a*). Solche Blasen sind es, die sich vergrößernd, aufeinander stoßend und sich gegenseitig abflachend das ganze Gefäß mit Gewebe anfüllen. An besonders günstigen Stellen des Querschnittes stellt man fest, daß es angrenzende Holzparenchymzellen sind, die durch einzelne Tüpfel hindurch sich blasenförmig in das Gefäßlumen vorwölben. Die unverholzte Schließhaut solcher einseitig behöfter Tüpfel ist es, die bei diesem Wachstum beteiligt ist. Wir bezeichnen die blasenförmigen Gebilde in den Gefäßen als Thyllen[2]). Nur bestimmte, nicht sehr zahlreiche Hölzer weisen unter normalen Verhältnissen solche Thyllen auf, und zwar finden sie sich einerseits im Kernholz, wo sie den Verschluß der außer Tätigkeit gesetzten Gefäße bewirken, andrerseits in noch tätigen Wasserbahnen, wo sie die betroffenen Gefäße aber nur teilweise auszufüllen pflegen und vornehmlich der Speicherung von Reservestoffen, so der Stärke, dienen. — Die Bildung von Thyllen kann aber auch durch Verwundung veranlaßt werden; solche traumatische Thyllen schließen, indem sie sich fest aneinanderfügen, das Gefäß gegen die Wunde ab[3]). — Wir stellen uns jetzt auch zarte radiale und tangentiale Längsschnitte durch dasselbe Stammstück her und untersuchen sie abwechselnd mit den Querschnitten, um ein Gesamtbild vom Bau dieses Holzes zu gewinnen. So gelangen wir zu dem Ergebnis, daß das Holz der Robinie der Hauptmasse nach aus Holzfasern besteht, die nach dem Spätholz zu enger werden, zugleich an Länge zunehmen und sich stärker zuspitzen. Die Holzfasern führen normalerweise Luft, sie weisen spaltenförmige, linksläufige Tüpfelung auf. Weitere Gefäße liegen vornehmlich im Frühholz;

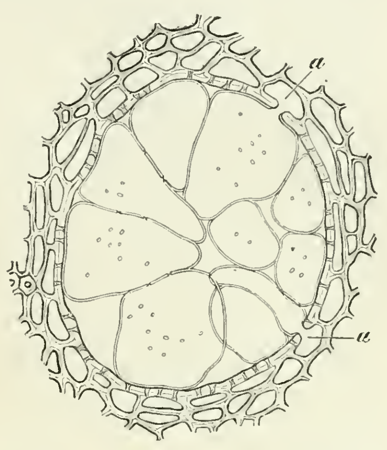


Fig. 137. Ein mit Thyllen erfülltes Gefäß, nebst den angrenzenden Elementen aus dem Kernholz der Robinie (Robinia Pseudacacia) im Querschnitt. Bei *a* ist der Zusammenhang einer Thylle mit ihrer Ursprungszelle zu sehen. Vergr. 300.

[1]) E. Strasburger, Leitungsbahnen, 1891, S. 188 ff.

[2]) Näheres über diese bei O. Gertz, Lunds Univers. Årsskr., N. F., Avd. 2, Bd. XII, No. 12, 1916, dort die ältere Literatur. Nach W. Gurnik, Dissert. Bern 1915, sollen die Thyllen in den von ihm untersuchten Hölzern ein Produkt der innersten Membranschicht der trachealen Elemente darstellen.

[3]) H. von Alten, Bot. Zeitg., LXVII. Jahrg., 1909, Abt. I, S. 1.

nach dem Spätholz zu werden sie immer enger, zeigen aber an ihren Terminalflächen stets eine runde Öffnung. Tracheïden, also an ihren Enden nicht durchbohrte, wasserleitende Elemente, gehen Robinia ganz ab. Alle diese Gefäße, sowohl die weiten als auch die faserähnlichen, engsten, sind mit behöft getüpfelten Wänden versehen. Holzparenchym umhüllt die Gefäße und zeigt die Neigung, sich flügelartig zu deren Seiten auszubreiten. An den Grenzen zwischen dem meist stärkehaltigen Holzparenchym und den Holzfasern finden sich kristallführende Holzparenchymzellen eingeschaltet; sie führen je einen Einzelkristall von Kalziumoxalat im Innern. Die mehrschichtigen Markstrahlen werden von relativ stark verdickten, radial gestreckten Zellen gebildet, zwischen denen kürzere, kristallführende eingeschaltet sind. Die Zellreihen des Markstrahls werden von hier deutlich erkennbaren, lufterfüllten Interzellularen begleitet. Aus den ziemlich stark verdickten Markstrahlzellen führen, wie das auch sonst unter solchen Verhältnissen sich einzustellen pflegt, Tüpfelkanäle nach den Interzellularen. Nur eine dünne Schließhaut trennt die Mündungsstellen der Tüpfel von der umgebenden Luft, welche die lebende Zelle zu ihren Atmungsvorgängen braucht. Die Parenchyme des Robinienholzes bleiben bis etwa ins achte Jahr lebendig, dann sterben sie ab; äußerlich zeichnet sich von da an das Holz durch seine braune Färbung aus. Dieses tote Holz bildet das Kernholz, im Gegensatz zum Splint, der das lebende Parenchym enthält und auch allein der Wasserleitung dient. Die dunkle Färbung des Kernholzes beruht auf Infiltration mit Stoffen, unter denen Gerbstoffe die Hauptrolle spielen. Während die Elemente des Splints durch Kaliumbichromat und molybdänsaures Ammon nicht gefärbt werden, nehmen die Elemente des Kernholzes in diesen Reagentien rotbraune Färbung an. Aus den tangentialen Schnitten, die mit Reagentien behandelt werden, gewinnt man den Eindruck, daß die Infiltration mit Gerbstoff von den Markstrahlen ausgeht. — Die Kambiumzellen besitzen bei Robinia nur geringe Länge; es fallen die Holzparenchymzellen dementsprechend kurz aus, obgleich sich die Kambiumzellen zu deren Bildung meist nur zweimal, ja selbst nur einmal teilen. Einzelne Kambiumzellen bleiben auch bei Bildung von Holzparenchym ungeteilt und liefern Ersatzfasern. — Im Bast wechseln Streifen von Siebröhren und Geleitzellen mit solchen von Bastparenchymzellen und Bastfasern ab. An jeden Siebröhrenstreifen grenzt beiderseits stärkeführendes Bastparenchym, an dieses eine Schicht sehr kurzer, kristallführender Bastparenchymzellen; dann folgt ein zwei- bis dreischichtiger Bastfaserstreifen. Die weiten Siebröhren sind dadurch ausgezeichnet, daß ein Klumpen[1]) einer stark lichtbrechenden Substanz, welche die üblichen Reaktionen des Siebröhrenschleims gibt, inmitten eines jeden Gliedes suspendiert ist. Die Siebröhrenglieder sind sehr kurz, die Siebplatten nur schwach geneigt; von Geleitzellen zeigen sich zwei bis vier übereinander neben jedem Siebröhrenglied. Man kann feststellen, daß die Geleitzellen aufeinander folgender Siebröhrenglieder meist nicht aufeinander treffen. Sie sind somit nicht bestimmt, den aus den Siebröhren aufgenommenen Inhalt auf größere Entfernung zu leiten, geben ihn vielmehr an die benachbarten Bastparenchymzellen oder Markstrahlzellen ab, zu denen sie oft in auffälliger Beziehung stehen. — Alle Markstrahlzellen im Bast sind dünnwandig. — Die Siebröhren bleiben nur ein Jahr tätig und werden dann so zerquetscht, daß man sie nur noch als weiße, geschichtete Häute in älteren Bastteilen

[1]) Vgl. darüber Beccarini, Malpighia, Bd. VI, 1892, S. 53 ff.

erkennen kann. Die radialen Längsschnitte zeigen deutlich, daß die Interzellularen des Markstrahls aus dem Bast nach dem Holz das Kambium durchsetzen. An die Interzellularen der Markstrahlen schließen die an, die dem Bastparenchym und dem Holzparenchym in der Längsrichtung des Stammes folgen. Der Bast wird in seinen peripherischen Teilen, wenn er etwa 12 Jahre alt geworden ist, durch Kork abgetrennt. Die einzelnen Korklagen erreichen nur geringe Mächtigkeit, folgen aber rasch aufeinander.

In dem Kernholz mancher Bäume, besonders in den Gefäßen und Tracheïden, doch auch den Markstrahlzellen und Zellen des Marks ist unter Umständen kohlensaurer Kalk in kristallinischer Form anzutreffen[1]). Man findet ihn bei Fagus silvatica, Ulmus campestris, Populus alba, Acer rubrum, Sorbus torminalis und in anderen Fällen. Der ganze Zellraum kann von dem Kalkkörper erfüllt sein, und dieser konzentrische Schichtung oder auch strahligen Aufbau aufweisen. Nach dem Glühen eines Längsschnittes aus dem betreffenden Holzkörper bleiben dann vollständige Abdrücke mancher Zellräume zurück, welche die ganze Struktur der umgebenden Wandung zeigen. Daß es sich bei diesen Gebilden wirklich um Kalziumkarbonat handelt, kann man leicht nachweisen, indem man Essigsäure bzw. Salzsäure auf sie einwirken läßt[2]), wobei durch die entstehende Kohlensäure Aufschäumen eintritt.

---

[1]) Vgl. H. Molisch, Sitzber. K. Akad. Wiss. Wien, Math.-Phys. Kl., Bd. LXXXIV, Abt. 1, 1882.

[2]) Vgl. außerdem S. 218 und den XV. Abschn. bei Zystolithen von Ficus elastica.

XII. Abschnitt.

Zentralzylinder und sekundäres Dickenwachstum der Wurzel.

Luftwurzeln der Orchideen. Zuwachs in konzentrischen Kreisen.

Untersuchungsmaterial.

Ausgewachsene Wurzeln von Allium Cepa, frisch oder in Alkohol, eventuell an ihrer Stelle ebensolches Material von Hyacinthus orientalis. Wurzeln von Acorus Calamus, frisch oder in Alkohol. Ebensolches Material von Iris florentina. Junge und ältere Wurzeln von Taxus baccata und Dracaena, frisch oder in Alkohol.

Wurzeln von Iris pumila und Ranunculus repens. Luftwurzeln von Dendrobium nobile oder einer anderen epiphytischen Orchidee. Zuckerrübe oder rote Rübe. Alle diese Objekte frisch.

Wichtigste Reagentien. Farbstoffe.

Konz. Schwefelsäure — Kalilauge — Anilinblau.

Mit dem Bau des Zentralzylinders der Wurzeln machen wir uns zunächst an den Wurzeln der Küchenzwiebel (Allium Cepa) bekannt. Mit annähernd gleichem Erfolg würden sich auch die von Hyacinthus orientalis verwenden lassen. Man kann sich hier reichliches Untersuchungsmaterial jederzeit verschaffen, indem man die Zwiebeln in Wasser, in sogenannten Hyazinthengläsern, austreiben läßt. Die Figur 138 zeigt uns einen Querschnitt aus der Basis einer so erhaltenen, kräftigen Adventivwurzel. Die Epidermis und die sehr starke primäre Rinde sind in der Zeichnung weggelassen, doch sieht man von letzterer noch die an die „Endodermis" grenzenden Zellen (*c*). Die Endodermis (Kernscheide) (*e*) zeigt in charakteristischer Weise an ihren radialen Wänden einen schwarzen Schatten. Dieser Schatten wird durch die welligen Biegungen eines mittleren Membranstreifens, des Casparyschen Streifens, dessen chemische Natur noch nicht aufgeklärt ist[1]), hervorgerufen. Eine solche Endodermis ist stets einschichtig; sie geht fast überall aus der innersten Rindenschicht hervor. Späterhin wird den Innenwänden der Endodermiszellen eine Suberinlamelle aufgelagert, die, wie wir an Schnitten aus ganz alten Wurzelteilen erkennen können, noch eine oft beträchtliche U-förmige Verdickung aus allmählich verholzender Zellulose erhält. Bei Behandlung mit Chlorzinkjod tritt diese dann gelb, mit Phlorogluzin Salzsäure, der wir, um die Verdunstungsgröße herabzusetzen, Glyzerin zufügen, rot gefärbt in den Präparaten hervor. Sie stimmt in diesem Verhalten mit dem der Verdickungen in den Wasserleitungsbahnen überein. Die Mitte des Zentralzylinders nehmen

[1]) Vgl. K. Kroemer, Bibliotheca Botanica, Heft 59, 1903, S. 91 ff.; ferner H. von Alten, Bot. Ztg., LXVIII. Jahrg., Abt. II, 1910, Sp. 155. Dort auch d. neuere Lit.

weite Treppengefäße (*sc*) ein. Ist die Wurzel nicht alt genug, so findet man die zentralen, ja vielleicht auch die anstoßenden Gefäße dünnwandig, nicht fertig ausgebildet. An die zentralen, bzw. an ein zentrales Gefäß, stoßen fast immer sechs engere Treppengefäße ($sc^{\times}$) an; auf diese folgt je eine Gruppe ganz enger Schrauben- und Ringgefäßtracheïden (*sp*, *sp* + *a*). Die Weite dieser Elemente nimmt also von innen nach außen ab, womit ein entgegengesetztes Verhalten wie im Stamm gegeben ist, das auf eine Drehung der Gefäßteile um 180° zurückzuführen ist. — Die Gefäßteile sind in diesem Fall zu einem

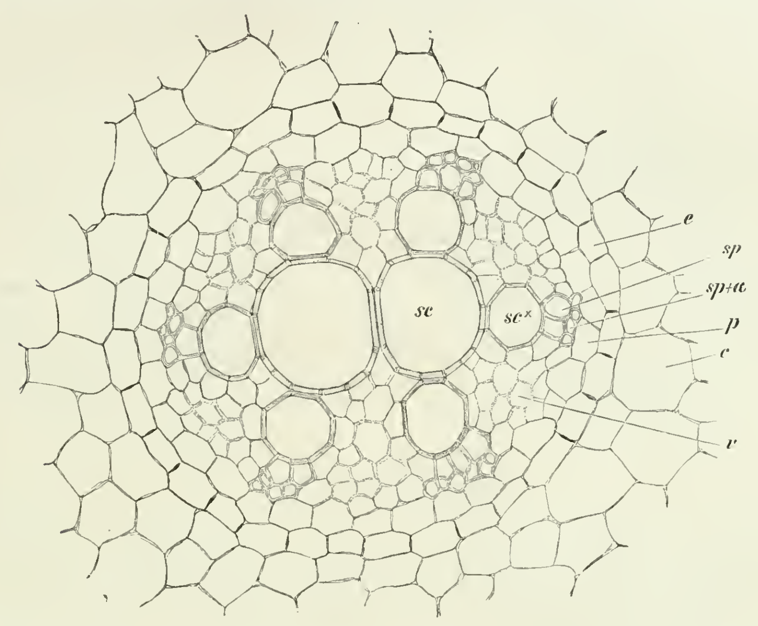


Fig. 138. Querschnitt durch die Basis einer kräftigen Adventivwurzel von Allium Cepa. *c* Rinde, *e* Endodermis, *p* Perizykel, *sp* Schraubentracheïden, *a* Ringtracheïden, *sc* und $sc^{\times}$ Treppengefäße, *v* Siebteil. Vergr. 240.

sechsstrahligen Stern angeordnet; der Zentralzylinder wird dann als hexarch bezeichnet. Mit diesen Gefäßteilen wechseln, jeweils neben ihnen liegend, die Siebteile (*v*) ab. Beide zeigen sich, was allgemein für die Zentralzylinder der Wurzeln gilt, in den Radien eines Kreises angeordnet, weshalb man sie auch in ihrer Gesamtheit als r a d i a l e s Leitbündel bezeichnet hat. Gefäßteile und Siebteile werden durch je eine Schicht parenchymatischer Grundgewebezellen seitlich voneinander getrennt. Die Siebteile sind an den weißen, glänzenden Wänden ihrer Zellen kenntlich; sie bestehen aus einigen Siebröhren und allerdings im Querschnitt nicht sicher von den Siebröhren zu unterscheidenden Geleitzellen. Von der Endodermis sind die Gefäß- und Siebteile durch eine einfache Zellschicht, den Perizykel (früher Perikambium genannt) (*p*), getrennt. In konz. Schwefelsäure wird der ganze Querschnitt gelöst, mit Ausnahme der Epidermis, auch Epiblem genannt[1]), der an sie grenzenden Zellage, außerdem der Endodermis

[1]) Vgl. A. Meyer, Erstes mikroskopisches Praktikum, 3. Aufl., 1915, S. 52.

und der Gefäße und Gefäßtracheïden. Die Verdickungen der letzteren haben sich schön gelb gefärbt. Die Endodermis, die sich während der Einwirkung der Schwefelsäure wohl z. T. umlegt, zeigt das mittlere Band an ihren radialen Wänden deutlich gewellt und präsentiert so ein Bild, das an eine leiterförmige Verdickung erinnert. Auch in der äußersten, an die Epidermis grenzenden Rindenschicht, ist eine solche Erscheinung zu beobachten, und wir können uns überzeugen, daß im unversehrten Präparat auch dort die radialen Wände einen schwarzen Schatten werfen. Die betreffenden Zellen sind auch fest untereinander verbunden und bilden somit eine Art äußerer Endodermis, die auch Exo-

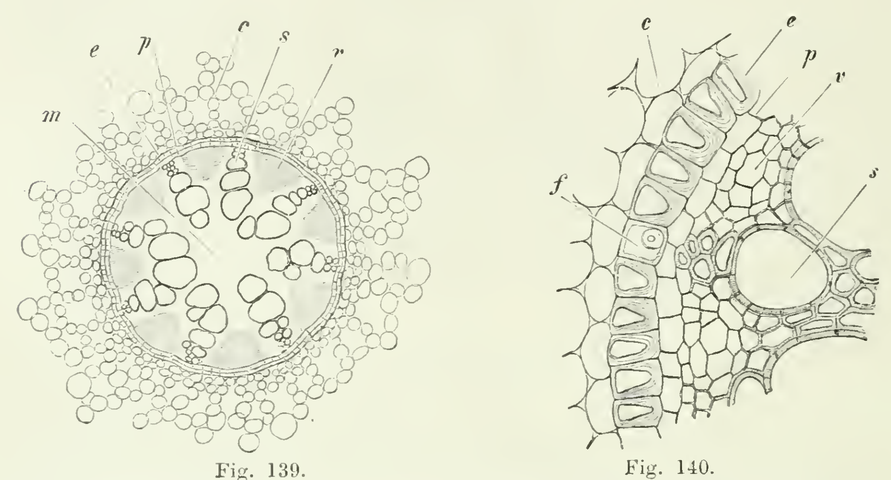


Fig. 139. Fig. 140.

Fig. 139. Querschnitt durch eine Wurzel von Acorus Calamus. *m* Mark, *s* Gefäßteile *v* Siebteile, *p* Perizykel, *e* Endodermis, *c* Rinde. Vergr. 90.

Fig. 140. Teil eines Querschnittes durch eine Wurzel von Iris florentina. *e* Endodermis, *p* Perizykel, *f* Durchlaßzelle, *v* Siebteil, *s* Gefäß im Gefäßteil, *c* Rinde. Vergr. 240.

dermis oder Interkutis[1]) genannt worden ist. Ihre Wände sind verkorkt und erhalten in Chlorzinkjod braungelbe Färbung, während die Membranen der bis zur Endodermis folgenden primären Rindenzellen infolge ihres Zellulosegehaltes violett erscheinen. In Phlorogluzin-Salzsäure bleiben sie ebenso wie die Zellen der primären Rinde ungefärbt. — Der Längsschnitt führt uns die Gefäße und Tracheïden samt ihren Verdickungen vor; mit Anilinblau kann man auch leicht die sich himmelblau färbenden Siebplatten der Siebröhren sichtbar machen. Von den Siebröhren sind jetzt deren Geleitzellen an reichlicherem Inhalt und geringerer Länge zu unterscheiden.

Zur weiteren Orientierung diene eine Wurzel des Kalmus, Acorus Calamus. Der Querschnitt durch einen ausgewachsenen Wurzelteil (Fig. 139) zeigt, daß hier die Vasalteile (*s*) im Innern des Leitbündelzylinders nicht zusammenstoßen; sie sind vielmehr meist in Achtzahl im Umkreis angeordnet, während die Mitte von Markgewebe erfüllt ist. Die weiten Gefäße liegen, wie bei Allium, nach dem Innern zu, die engen Tracheïden nach der Peripherie. Die Siebteile (*v*) wechseln

[1]) Vgl. K. Kroemer, l. c. 1903, S. 32; ferner A. Meyer, l. c. 1915, S. 52.

auch hier mit den Vasalteilen ab. Beide werden seitlich voneinander durch eine einfache bis doppelte Lage parenchymatischer Grundgewebezellen und nach außen von der Endodermis (*e*) durch einen einschichtigen Perizykel (*p*) getrennt. Die Endodermis besteht aus flachen, dünnwandigen Zellen. Die Endodermis, der Perizykel und alles übrige Grundgewebe im Leitbündelzylinder sind meist dicht mit Stärke erfüllt; daher zeichnen sich die stärkelosen Siebteile im Bild besonders hell. Die Zellen der inneren Rinde werden in einschichtigen Lagen durch zahlreiche Luftkanäle getrennt. In der Peripherie rücken die Rindenzellen zu einem festen, mehrere Zellschichten starken Gewebe zusammen. Die äußerste, hypodermale Rindenlage besteht aus radial gestreckten Zellen und bildet auch hier wie an anderen Wurzeln eine Exodermis, die bestehen bleibt, während die Epidermis selbst abstirbt und zerstört wird. Die Zellen der Exodermis führen Harz. Durch das verdickte Band an den radialen Wänden der Endodermis wird der Zentralzylinder der Wurzel lückenlos gegen die Interzellularen der Rinde abgeschlossen.

Ein Querschnitt durch die Wurzel von Iris florentina zeigt im axilen Leitbündelzylinder die größte Übereinstimmung mit Acorus, dagegen ist die Endodermis anders gebaut (Fig. 140). Ihre Zellen (*e*) sind, und zwar auf der nach dem Wurzelinnern gelegenen Seite besonders stark U-förmig verdickt, die Verdickungsmassen schön geschichtet. An einzelnen Stellen fällt eine unverdickte Zelle auf; es ist festzustellen, daß, soweit vorhanden, eine solche Zelle (*f*) stets vor einem Gefäßstrahl liegt. Diese Zellen werden Durchlaßzellen genannt; sie sind permeabel und unterhalten die Verbindung mit der umgebenden Rinde (*c*). In konz. Schwefelsäure quellen die Verdickungsschichten der Endodermis und werden gelöst, nur die anscheinend verholzten Mittellamellen, die eine zarte Hülle um die Endodermiszellen und auch um die Durchlaßzellen bilden, bleiben erhalten. So werden auch die Mittellamellen zwischen den Gefäßen und im Mark nicht gelöst und bilden ein zartes, braungelbes Netzwerk. — Ein tangentialer Längsschnitt, der die Endodermis streift, lehrt uns, daß deren vor den Holzteilen liegende Längsstreifen abwechselnd aus langen, verdickten und kurzen, unverdickten, inhaltsreichen Durchlaßzellen bestehen. Hin und wieder folgen auch zwei kurze Durchlaßzellen aufeinander.

Die Entwicklungsstadien der Endodermiszellen lassen sich sehr gut an den Wurzeln von Iris pumila studieren[1]). Im Embryonalstadium zeigen sich die Zellen noch nicht vom übrigen Meristem differenziert. Ihre Wände lösen sich schnell in konz. Schwefelsäure. In Chlorzinkjod werden die nach außen liegenden Tangentialwände und die Radialwände hellblau, die Ansatzstellen der benachbarten Zellwände (Zwickel) gelblich gefärbt. In Kupferoxydammoniak tritt keine Zellwandlösung ein. Nach längerer Behandlung mit Eau de Javelle lassen sich die Wände mit Methylenblau und Rutheniumrot intensiv färben. Sie bestehen anscheinend nur aus Hemizellulosen; höchstens sind in den älteren Zwickeln schon Nichtkohlenhydrate in geringer Menge eingelagert. Im nächsten Stadium, dem Primärstadium, bei dem besonders deutlich an den Tangentialwänden erkennbare Membranlamellen den Endodermiszellwänden aufgelagert werden,

[1]) Vgl. A. Meyer, l. c. 1915, S. 34 ff., 52 ff., 214.

ferner der CASPARYsche Streifen auf den Radialwänden erscheint, lösen sich die ursprünglichen Radialwände nicht mehr, wohl aber der CASPARYsche Streifen und die aufgelagerten Lamellen. Nach Behandlung mit Chlorzinkjod zeigen sich die Radialwände gelb, die nach außen liegenden Tangentialwände hellblau und die Zwickel gelb gefärbt. Gegen Kupferoxydammoniak erweisen sich die Membranen sehr widerstandsfähig. In Chromsäure treten Zwickel und CASPARYscher Streifen zunächst deutlich hervor, später löst sich aber alles. Mit Rutheniumrot werden Zwickel und CASPARYscher Streifen besonders intensiv gefärbt[1]). Durch Methylenblau läßt sich besonders der CASPARYsche Streifen hervorheben. Bringt man Schnitte für längere Zeit in Eau de JAVELLE, dann für 24 Std. in kalte 10-proz. Schwefelsäure und läßt dann 10-proz. Ammoniak auf sie einwirken, so löst sich nur die Mittellamelle, während in Kupferoxydammoniak alles in Lösung geht. Im Sekundärzustand zeigt sich auf den Innenwänden der Endodermiszellen eine Suberinlamelle, auf dieser im Tertiärstadium oft in beträchtlicher Dicke noch später vielfach verholzende Zelluloselamellen abgelagert. In konz. Schwefelsäure werden diese sekundären Lamellen gelöst, nur die Suberinlamelle und die primäre Radialwand mit ihren Zwickeln nicht. In Chlorzinkjod erhalten die sekundären Lamellen in den Endodermiszellen eine gelbe Färbung, ebenso deren Primärmembran und Zwickel. Mit Phlorogluzin-Salzsäure werden die Primärmembranen der Radialwände und die Sekundärlamellen älterer Endodermiszellen rötlich gefärbt. In Kupferoxydammoniak quellen sämtliche Lamellen in mehr oder minder starkem Maße. In Material, das 6—12 Std. mit Eau de JAVELLE behandelt worden ist, löst Kupferoxydammoniak die Sekundärlamellen vollständig, die anderen Lamellen nicht. Werden die Schnitte 12 Std. lang der Einwirkung von 5-proz. Schwefelsäure ausgesetzt und dann mit 30-proz. Ammoniak behandelt, so lösen sich alle Mittellamellen bis auf die der Tangentialwand. Läßt man Kupferoxydammoniak statt Ammoniak einwirken, so löst sich alles — selbst die Radialwände — mit Ausnahme der Suberinlamelle.

Die Wurzeln der Dikotylen sind weniger günstig für das Studium als die der Monokotylen. Nachdem wir uns aber an letzteren orientiert haben, wird es uns nicht schwer fallen, die ersteren richtig zu deuten. Wir stellen uns zunächst einen Querschnitt aus dem Grunde einer kräftigen Adventivwurzel der Ausläufer von Ranunculus repens, dem kriechenden Hahnenfuß, her. Der Zentralzylinder scheint weniger scharf als bei Monokotylen gegen das Rindengewebe abzusetzen; bei aufmerksamer Betrachtung finden wir aber auch hier, an der Grenze beider, die Endodermis. In jüngeren Wurzeln ist letztere dünnwandig und zeigt deutlich auf den radialen Wänden den dunkleren Schatten. In älteren Wurzeln ist sie stärker verdickt, und der dunklere Schatten innerhalb der verdickten Wände dann weniger sichtbar. Je nach der Wurzel verschieden, sind die Gefäßteile durch vier oder fünf, auch wohl durch nur drei Vasalstrahlen im Zentralzylinder vertreten; die weiteren Gefäße liegen auch hier nach innen, die engeren Gefäßtracheïden nach außen. Bei Monokotylen zeichnet sich ein innerstes Gefäß der Strahlen oft durch besondere Weite aus; bei Dikotylen kommt dies nur ganz selten vor und ist bei Ranunculus nicht

[1]) Der CASPARYsche Streifen färbt sich nur bei Angiospermen mit Rutheniumrot, jedoch nicht bei den Pteridophyten und Gymnospermen. Vgl. u. a. MENKO PLAUT, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVII, 1910, S. 121 ff., und den Bericht von H. VON ALTEN, Bot. Ztg., II. Abt., LXVIII. Jahrg., 1910, Sp. 156.

zu beobachten. — Die Gefäßstrahlen erreichen bei Ranunculus die Mitte des Zylinders und stoßen hier mehr oder weniger vollständig aneinander. Doch werden die innersten Gefäße erst spät fertig gestellt und verharren lange in Zustand dünnwandiger, gestreckter Zellen. Die Siebteile wechseln in gewohnter Weise mit den Gefäßteilen ab. In den einzelnen Siebteilen fällt vielfach eine fächerförmige Anordnung der Elemente und eine Größenabnahme dieser nach dem Innern des Zentralzylinders hin auf. Diese Erscheinung wird durch die längere Zeit anhaltende Tätigkeit einer Kambiumzone an der inneren Seite des Siebteils bedingt.

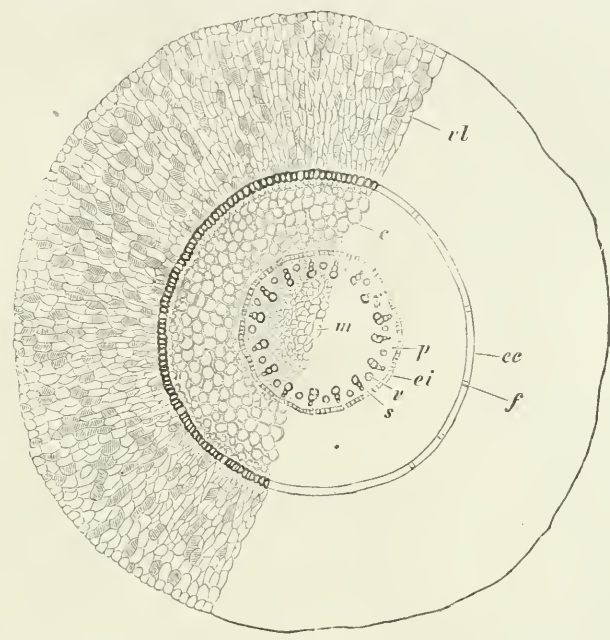


Fig. 141. Querschnitt durch die Luftwurzel von Dendrobium nobile. *vl* Velamen, *ee* Exodermis, *f* Durchlaßzellen in ihr, *c* Rinde, *ei* Endodermis, *p* Perizykel, *s* Gefäßteile, *v* Siebteile, *m* Mark. Vergr. 28.

Einen ungewohnten Bau weisen die Luftwurzeln der Orchideen und einiger Aroïdeen auf. Wir wählen zur Untersuchung die in unseren Gewächshäusern nicht eben seltene Orchidee Dendrobium nobile. Eine andere mit Luftwurzeln versehene, epiphytische Orchidee kann die genannte aber ersetzen, wenn dann auch nicht volle Übereinstimmung des Baues zu erwarten ist. Die Luftwurzeln von Dendrobium nobile zeigen eine weiße, pergamentartige Hülle (Velamen); nur ihr fortwachsendes Ende ist grün. Wir führen einen Querschnitt durch die Luftwurzel in einer Entfernung von etwa 6—8 cm vom Vegetationspunkt (Fig. 141). Da sehen wir zunächst eine etwa 10 Zellagen starke Schicht polygonaler, lückenlos verbundener, lebloser, lufthaltiger, mit zahlreichen Schraubenbändern versehener Zellen (*vl*), die wir diesem Verhalten nach auch hier als tracheïdale Elemente bezeichnen können. Die in den tracheïdalen Elementen vorhandene Luft läßt die ganze Hülle weißlich erscheinen. Die äußerste Zellschicht der Hülle ist in dem uns vorliegenden Fall nicht anders als die folgenden gebaut und setzt nicht scharf gegen diese ab, wie denn auch die Ent-

wicklungsgeschichte lehrt, daß die ganze Wurzelhülle sich am fortwachsenden Scheitel auf eine einzige Zellschicht, aus der sonst die Epidermis hervorgeht, zurückführen läßt [1]). Die Wurzelhülle gehört somit in die Kategorie der mehrschichtigen Epidermen. Nach innen grenzt an die Wurzelhülle die als Exodermis (*ee*) bezeichnete, scharf abgesetzte Rindenschicht. Sie besteht hauptsächlich aus stark verdickten, glänzend weißen, etwas radial gestreckten Zellen und ist stets nur eine Zellage stark. Durchmustern wir sie aufmerksam, so fallen uns einzelne ihrer Zellen, die Durchgangs- bzw. Durchlaßzellen (*f*) auf, die im Querschnitt wohl wie die anderen gestaltet erscheinen, aber unverdickt sind. Jetzt folgt eine 6—8 Zellagen dicke Rinde (*c*) aus chlorophyllhaltigen Zellen, deren Größe nach der Mitte zu wächst, um am Innenrand wieder abzunehmen. Die innerste Lage dieser Zellen stößt an die Endodermis (*ei*), die sich unschwer von dem umgebenden Gewebe unterscheiden läßt. Die Endodermis umgibt den Zentralzylinder; sie besteht abwechselnd aus dickwandigen, etwas flacheren, und aus dünnwandigen, etwas tieferen Zellen. Diese letzteren stellen die Durchlaßzellen dar. Die dickwandigen Streifen sind etwas breiter. Auf die Endodermis folgt ein ziemlich stark verdicktes Gewebe, in dem wir, in der uns bekannten Abwechslung, Gefäßteile und Siebteile im Kreise angeordnet erblicken. Vor den Siebteilen liegen die verdickten, vor den Gefäßteilen die unverdickten Elemente der Endodermis. Die Gefäßteile (*s*) schließen nach innen meist mit nur einem großen Gefäß ab. Die Siebteile, durch die glänzend weiße Färbung ihrer Zellwände ausgezeichnet, zeigen eine bis zwei innerste, große Siebröhren (*v*) und nach außen folgend einige kleine Siebröhren und Geleitzellen. Gefäß- wie Siebteile erreichen die Endodermis nicht, sind vielmehr von ihr auch hier durch einen einschichtigen Perizykel getrennt. Die Grundgewebezellen des Zentralzylinders gehen nach innen zu allmählich in ein großzelliges Mark (*m*) über, das kleine mit Luft erfüllte Interzellularräume zwischen seinen Zellen aufweist. Lufterfüllte Interzellularen sind sonst eine im Zentralzylinder von Wurzeln seltenere Erscheinung.

Wir stellen jetzt Längsschnitte her, indem wir, von der Peripherie beginnend, so lange zarte Lamellen abtragen, bis wir die Mitte der Wurzel erreichen. Wir gelangen so aus den tangentialen Längsschnitten schließlich in radiale. Die Schnitte legen wir in entsprechender Aufeinanderfolge auf den Objektträger und untersuchen sie der Reihe nach. Die ersten Schnitte zeigen uns nur die in der Längsrichtung gestreckten, mit zahlreichen Schraubenbändern versehenen, lufthaltigen Zellräume der äußeren Hülle. Dann tritt uns eine Flächenansicht der Exodermis entgegen. Die unverdickten, plasmaerfüllten Durchlaßzellen in ihr erscheinen kurz, rundlich und machen bei schwacher Vergrößerung fast den Eindruck von Spaltöffnungen; alsbald überzeugt man sich aber, daß sie einzellig sind. Die verdickten Zellen dieser Exodermis sind nicht unbedeutend gestreckt, ihre verdickten Seitenwände von einfachen Poren durchsetzt. Je eine solche lange, verdickte Zelle wechselt mit einer ovalen, kurzen, dünnwandigen ab. Die nächsten Schnitte führen uns die chlorophyllhaltigen Rindenzellen vor. Hierauf gelangen wir zu der Endodermis, die wir abwechselnd aus Streifen dickwandiger, langer, meist stark zugeschärfter, und aus Streifen dünnwandiger, kurzer Zellen gebildet sehen. Letztere sind augenscheinlich, bei ausbleibender Verdickung, durch Teilung aus ähnlicher Anlage wie die ersteren entstanden. Hierauf gehen wir gleich zu einem medianen

[1]) A. de Bary, Vgl. Anat., 1877, S. 237; dort die Literatur.

Längsschnitt über. Wir stellen an ihm fest, daß die kurzen, unverdickten Zellen innerhalb der Exodermis etwas nach innen vorgewölbt sind, und daß die radialen Seitenwände der verdickten Zellen leiterförmige Streifung besitzen. Die Endodermis zeigt andererseits, je nachdem sie der Schnitt traf, dünnwandige, kurz gefächerte oder dickwandige, ungefächerte Zellen. Die dickwandigen Zellen der Endodermis werden nach außen öfters verstärkt durch einzelne enge, mäßig verdickte und flach getüpfelte Rindenzellen. Der Perizykel ist relativ kurzzellig, eng, mit zahlreichen, unbehöften Tüpfeln versehen. Die anstoßenden Zellen des Grundgewebes sind ebenso eng, doch weit länger, spärlicher getüpfelt und zeigen sehr stark geneigte Querwände. Diese Grundgewebezellen erweitern sich allmählich zu denen des mittleren Marks, die größere Tüpfel und genau quer gestellte Endflächen besitzen. Alle Grundgewebezellen sind mit Plasmaschlauch und Zellkern versehen, somit lebend. Die großen Gefäße zeigen sich treppen- oder netzförmig, die kleineren, nach außen anstoßenden Gefäßtracheïden treppenförmig verdickt. Die Zellen, welche die Gefäße und Gefäßtracheïden unmittelbar umgeben und als Vasalparenchymzellen zu gelten haben, richten sich in ihrer Verdickung nach ihnen. Sie sind auch etwas kürzer als die angrenzenden Grundgewebezellen, sonst aber von ihnen nicht weiter verschieden. Hin und wieder hat der Längsschnitt eine der großen, leicht zu erkennenden Siebröhren getroffen.

Die Luftwurzeln der tropischen und nicht minder auch die Bodenwurzeln der einheimischen Orchideen[1]) pflegen von einem parasitischen Pilz besiedelt zu sein. Die betreffenden Gewebe sind an ihrer gelben Färbung kenntlich. Diese Färbung rührt von dem Gelbwerden der Chlorophyllkörner und von gelben Klumpen in den befallenen Zellen her. Das Myzel des Pilzes ist auf Längsschnitten besonders leicht zu sehen. Es durchzieht in den Luftwurzeln die tracheïdale Hülle, durchsetzt auch die Durchlaßzellen der Exodermis und gelangt auf diesem Wege in die Rinde, wo es sich vornehmlich in den inneren Schichten ausbreitet. In den Bodenwurzeln füllt es die äußeren Rindenlagen unter der Exodermis aus (Endotrophe M y k o r r h i z a). Durch inverse Tinktion (vgl. XVII. Abschn.) lassen sich die Pilzfäden sehr deutlich gegen die von ihnen befallenen Wirtszellen hervorheben. Der Pilz gehört, wie Reinkultur- und Wiederinfektionsversuche bei Orchideensamen lehrten, allem Anschein nach zur Basidiomycetengruppe der Telephoreen, speziell Hypochnus, ist der auf Kartoffelknollen oft Sklerotien bildenden Rhizoctonia violacea Tul. (Rh. Solani Kühn) sehr ähnlich und als Rhizoctonia repens bezeichnet worden[2]).

Die Luftwurzel von Dendrobium nobile erscheint radiär gebaut; höchstens bemerken wir am Querschnitt, daß die Rinde an der dem Licht zugekehrten Fläche etwas chlorophyllreicher ist; im übrigen bietet diese Fläche bei der unter normalen Verhältnissen beobachteten Wurzel nichts

---

[1]) W. Wahrlich, Bot. Ztg., XLIV. Jahrg., 1886, Sp. 483; W. Magnus, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXV, 1900, S. 205 ff.; K. Shibata, Ebenda, Bd. XXXVII, 1902, S. 643; S. Kusano, Journ. College of Agricult., Univ. Tokyo, Bd. IV, No. 1, 1911, S. 1 ff. u. a. Eine Zusammenfassung der hauptsächlichsten neueren Untersuchungsergebnisse findet sich bei W. Magnus, Mykorrhiza, Text zu den Knyschen Wandtaf., XIII. Abt., 1911 und bei H. Burgeff, Handwörterbuch d. Naturwissensch., Bd. IX, 1913, S. 146 ff.

[2]) Vgl. Noël Bernard, Ann. d. sc. nat., Bot., sér. 9, T. IX, 1909. Ferner H. Burgeff, Die Wurzelpilze der Orchideen, ihre Kultur und ihr Leben in der Pflanze. 1909, ferner Derselbe, l. c. 1913, S. 949.

Abweichendes in der Ausbildung ihrer Hülle. Legt man eine Wurzel für ein oder mehrere Tage in Wasser, so fällt freilich auf, daß einzelne Stellen besonders energisch die Luft festhalten und infolgedessen als weiße Flecke auf grünlichem Grunde vortreten. Diese Flecke halten sich an die Schattenseite der Wurzel. Querschnitte zeigen, daß sie, nach innen zu sich meist verjüngend, bis zur Exodermis reichen. Anatomisch sind sie bei Dendrobium nicht deutlich abgesetzt und zeichnen sich nicht durch einen besonderen Bau aus. Bei einer Anzahl anderer tropischer Orchideen hingegen treten uns an den Luftwurzeln solche Luftwege in viel ausgeprägterer Form, in Gestalt länglicher Flecke und Streifen entgegen. Man vermag sie dort schon unter normalen Verhältnissen zu erkennen; sie zeichnen sich dadurch aus, daß sie sehr stark die Luft festhalten, sehr durchlässig für Gase sind, während sie Flüssigkeiten energisch den Durchgang wehren; sie ersetzen auf diese Weise die fehlenden Spaltöffnungen. Dazu kommt, daß die Luftwurzeln dieser Pflanzen, im Gegensatz zu den Bodenwurzeln, ausgeprägt dorsiventral sind. Die Hülle und die Exodermis an der Unterseite zeigen eine andere Organisation als die an der Oberseite; die Luftwege fehlen der letzteren. In einzelnen Fällen geht es bis zu einer Abflachung der Luftwurzel in einer ihrer Dorsiventralität entsprechenden Richtung[1]).

Solche Gewächse, die einen sekundären Zuwachs im Stamm besitzen, weisen diesen auch in der Wurzel auf. Bei Gymnospermen und Dikotylen wird mit beginnendem Dickenwachstum Kambium zunächst an der Innenseite der Siebteile angelegt. Von hier aus setzt es sich seitlich nach außen durch das Parenchym fort, um endlich vor den Gefäßteilen zusammenzuschließen und so den „Verdickungsring"[2]) zu bilden. Das Kambium beschreibt somit zunächst eine wellige Linie, die sich, nachdem die Holzbildung nach innen und die Bastbildung nach außen eine Zeitlang anhielt, zu einem Kreise abrundet. In den mit sekundärem Dickenzuwachs begabten Wurzeln der Monokotylen, z. B. Dracaena, wird ein Kambiumring in der an die Endodermis grenzenden Rindenschicht angelegt[3]), es zeigen sich also dort ähnliche Verhältnisse wie im Stamm (vgl. S. 238). Für die erste, komplizierter erscheinende Art des Wurzelzuwachses empfiehlt sich als Untersuchungsobjekt die Eibe, Taxus baccata. Wir verschaffen uns Wurzelstücke mit jungen, unversehrten Auszweigungen und führen einen Querschnitt durch eine etwa 1 mm dicke Seitenwurzel. Ihre Oberfläche wird von einer mindestens 10 Zellen starken, parenchymatischen Rinde eingenommen, deren äußerste Zellagen die Exodermis oder Interkutis (s. S. 290) darstellen, die den Schutz der Wurzel zu besorgen hat. Behandelt man den Querschnitt mit Javelle-scher Lauge und darauf mit Sudan-Glyzerin (Sudan III 0,01 g in 5 ccm 96-proz. Alkohol gelöst und dann mit 5 ccm Glyzerin versetzt; s. a. Reg. IV), so zeigt sich, daß die Interkutiszellen mit dem angewendeten Reagens rot sich färbende Suberinlamellen besitzen, ein Verhalten, das sich in der Regel bei den Taxaceen, nicht aber bei den

[1]) Vgl. hierzu H. Leitgeb, Denkschr. d. Akad. d. Wiss. in Wien, Math.-Nat. Kl., Bd. XXIV, 1865, s. 204; A. F. W. Schimper, Bot. Zentralbl., Bd. XVII, 1884, S. 256; E. v. Janczewski, Ann. d. sc. nat., Bot., 7. sér., T. II, 1885, S. 55, 77 u. a. m.

[2]) G. Haberlandt, Physiol. Pflanzenanatomie, 5. Aufl., 1918, S. 612.

[3]) L. Lindinger, Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. XIX, 1. Abt. 1906, S. 323; S. Rywosch, Zeitschr. f. Bot., Bd. I, 1909, S. 274.

Abietineen findet[1]). Das Innere des Querschnittes nimmt der Zentralzylinder ein, der von der Endodermis umgeben ist. Diese besteht aus flachen, dünnwandigen Zellen, deren Wände gebräunt sind und deren Durchmesser dem der Rindenzellen bedeutend nachsteht. Ihre Zellen zeigen auf den radialen Wänden den charakteristischen dunklen Schatten. Um die Endodermis ist eine ebenfalls einschichtige „Verstärkungsschicht“ entwickelt, deren Zellen die Weite der übrigen Rindenzellen haben, aber an den radialen Wänden durch einen dicken, gelbglänzenden Ring ausgezeichnet sind, der, wie sein Verhalten gegen

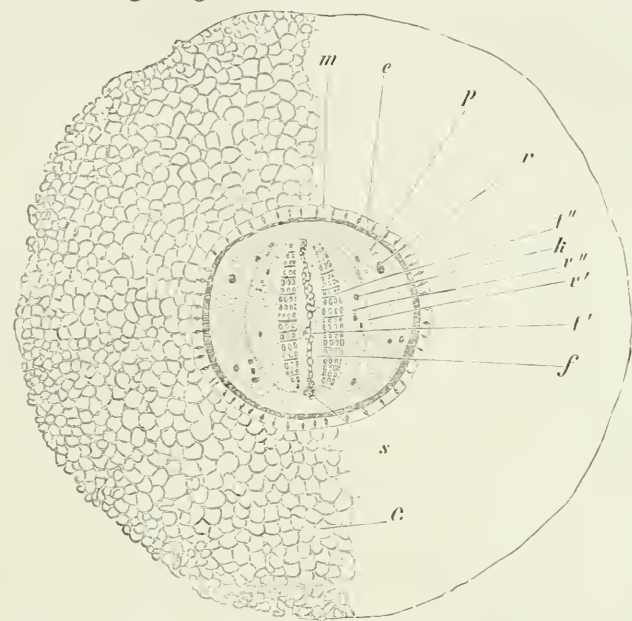


Fig. 142. Querschnitt durch eine Wurzel von Taxus baccata, nach Beginn des Dickenwachstums. *c* Rinde, *m* Verstärkungsschicht, *e* Endodermis, *p* Perizykel, *s* Schraubentracheïden, *t'* primäre Tracheïdenplatte, *f* Grundgewebestreifen, *t''* sekundäre Tracheïden mit Markstrahlen, *v''* sekundärer Bart, *v'* zerquetschter primärer Siebteil, *k* Zellen im sekundären Bast mit Kristallen in den Wänden, *r* harzführende Zellen im Perizykel. Vergr. 42.

Chlorzinkjod, Phlorogluzin-Salzsäure, Anilinhydrochlorat bzw. Anilinsulfat und salzsaures Dimethylamidoazobenzol (s. S. 274) andeutet, verholzt ist. Nach vorhergehender kurzer Behandlung der Schnitte mit Javellescher Lauge zeigt sich, daß nur die Mittellamelle und die inneren Partien der Verdickung die auf Verholzung deutende Färbung annehmen[2]). Diese ringförmigen Verdickungen entsprechen sich in den benachbarten Zellen, was ihnen im Durchschnitt die Gestalt von bikonvexen Linsen gibt und auch die Veranlassung zur Benennung „Φ-Zellen“ für die solche Verdickungen aufweisenden Zellen war[3]). Der Zentralzylinder weist einen diarchen Vasalteil in Gestalt einer transversalen Platte auf, die an ihren beiden Enden aus engen Schrau-

[1]) Menko Plaut, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVII, 1910, S. 137, und Ebenda, Bd. XLVIII, 1910, S. 145.

[2]) Menko Plaut, l. c., Bd. XLVII, 1910, S. 152, 155

[3]) K. Kroemer, l. c. 1903, S. 81.

bentracheïden, im übrigen aus weiteren, behöft getüpfelten Tracheïden besteht. Zu beiden Seiten der Tracheïden liegt je ein der Hauptsache nach zweischichtiger Streifen englumiger, dünnwandiger, stärkeführender Grundgewebezellen. An diese grenzt das noch etwas kleinzelligere Gewebe des aus Siebröhren und eiweißhaltigen Parenchymzellen bestehenden Siebteils. Endlich finden wir jenseits des letzteren den von stärkeführenden Zellen gebildeten Perizykel.

Betrachten wir jetzt einen Querschnitt von etwa 1,5 mm Durchmesser, so sehen wir, daß in der an die Innenseite der beiden Siebteile grenzenden Schicht des Grundgewebes die Zellen sich zu teilen begonnen haben. Sie verwandeln sich in einen Kambiumstreifen, der fortan nach innen Tracheïden, nach außen Bast, beiderseits auch Markstrahlen liefert. Wir wollen die weitere Tätigkeit dieser Kambiumstreifen an einer 2 mm dicken Wurzel ins Auge fassen und uns an der umstehenden Figur 142 gleichzeitig orientieren. Der Querschnitt zeigt zunächst die uns bereits bekannten Verhältnisse: die Rinde (*c*), die äußere Verstärkungsschicht (*m*), die Endodermis (*e*) und den Zentralzylinder. Die äußerste Zellschicht des Perizykels hat sich inzwischen durch tangentiale Wände zu teilen begonnen und eine Peridermschicht erzeugt. Zu beiden Seiten der medianen Tracheïdenplatte (*t'*) sehen wir die innere, untätige Schicht des Grundgewebes (*f*), das als Markgewebe gelten kann; weiterhin die neugebildeten, radial angeordneten Tracheïden (*t''*) mit zahlreich eingeschalteten Markstrahlen. — Leichter orientiert man sich über diese Verhältnisse, wenn man dem Präparat etwas Kalilauge zusetzt. Die Schraubentracheïden (*s*) an den Kanten der medianen Platte treten deutlich, schwarz konturiert, hervor; ihre behöft getüpfelten Tracheïden (*t'*), sowie jene des sekundären Zuwachses (*t''*) färben sich schön gelb; das Mark bleibt weiß. Die sekundär erzeugten Holzstreifen haben einen plankonvexen Umriß, sie laufen an ihren Kanten spitz aus, greifen aber jetzt noch nicht vor die Schraubentracheïden. An der Außenseite des Holzkörpers finden wir das Kambium, und außerhalb davon den sekundär erzeugten Bast (*v''*), der nach Kalilauge-Behandlung weiß erscheint, in dem sich aber einzelne Zellen (*k*) schwarz zeichnen. Es sind das Zellen, die Kristalle von Kalkoxalat in ihre Wand eingelagert haben. Den primären Siebteil (*v'*) findet man zerquetscht an der Außenseite des sekundär erzeugten wieder. Im Perizykel fallen nach dieser Behandlung viel deutlicher als zuvor einzelne Zellen durch ihren gelbbraunen Inhalt auf; sie führen Harz. Die aus der äußersten Perizykelschicht entstandene Korklage färbt sich mit Kalilauge gelblich-grün, die Verdickungsringe der Verstärkungsschicht glänzend gelb. Die Endodermis ist von der Korklage flachgedrückt worden.

Weiterhin untersuchen wir auch noch den Querschnitt durch eine etwa 2 mm dicke Wurzel, die ihre Rinde bereits abgeworfen hat und eine dunkelbraune Oberfläche zeigt. Der Querschnitt führt uns einen völlig geschlossenen Holzkörper vor; es wäre das Bild von dem eines gleichstarken Stammdurchschnittes nicht zu unterscheiden, wenn nicht die Stelle des Marks von der primären Tracheïdenplatte eingenommen wäre. Die Oberfläche wird jetzt durch die von dem Perizykel erzeugte Korkschicht gedeckt.

Längsschnitte durch diese Wurzeln sind nötig, um festzustellen, daß die mediane Tracheïdenplatte aus eben solchen Elementen wie das sekundäre Holz besteht. Wir finden an den Kanten dieser Platte die Schraubentracheïden wieder, erkennen auch die Zellen der Endodermis, die nur geringe Höhe besitzen, während die Zellen der Verstärkungsschicht selbst die anstoßenden Rindenzellen an Höhe übertreffen. Mit Anilinblau können wir die Siebplatten im primären und sekundären Siebteil nachweisen.

Die Familien der Chenopodiaceen, Amarantaceen, Nyctaginaceen, Mesembryanthemeen, sowie auch die Gattung Phytolacca sind unter den Dikotylen dadurch ausgezeichnet, daß der sekundäre Zuwachs in Stamm und Wurzel nicht, wie gewöhnlich, nur durch einen Kambiumring, welcher den normalen Leitbündelring entstehen läßt, vermittelt wird, sondern daß außerhalb von diesem noch eine Anzahl weiterer Kambiumringe gebildet wird, die ihrerseits (überzählige) Leitbündelringe entstehen lassen. Wir wollen diese Verhältnisse an der Wurzel der Zuckerrübe (Beta vulgaris L. var. rapa Dum.), als einem leicht zugänglichen, wenn auch ziemlich schwierigen Objekt, eingehender untersuchen.

Die Hauptwurzel der Zuckerrübe besitzt an zwei einander gegenüberliegenden Flanken je eine mehr oder weniger spiralig gedrehte Längsrinne, die sogenannte Wurzelrinne. In dieser entspringen die Seitenwurzeln in zwei einander genäherten Reihen. Die Seitenwurzeln werden, wie auch sonst meist bei diarchen Wurzeln, nicht in einer Reihe vor jedem Gefäßteil, sondern zu den beiden Seiten jedes Gefäßteils, also im ganzen in vier Reihen angelegt.

Das Querschnittsbild der ausgewachsenen Rübe zeigt bei makroskopischer Betrachtung in der Regel 8—11 konzentrische Kreise. Wie das nähere Studium lehrt, stellen sie abwechselnde Ringe von Holz- und Siebteilen mit ihren Kambialzonen dar. Bei der mikroskopischen Untersuchung zarter Querschnitte fallen uns zunächst in jedem Kreise die dunkler als die übrigen Gewebe erscheinenden, zu einem Kranz angeordneten Leitbündel auf. Diese sind durch zartwandiges Parenchymgewebe, die sekundären Markstrahlen, getrennt. Ebenso werden die Leitbündel des einen Rings von den des nächstjüngeren, bzw. nächstälteren Rings durch ein aus rundlichen Zellen bestehendes Parenchym, das parenchymatische Speichergewebe, getrennt. Die Holzteile der Leitbündel bestehen aus einer bis mehreren Reihen radial angeordneter Gefäße und Tracheïden, die durch (Holz-) Parenchymzellen getrennt und von solchen auch umgeben werden. An dem inneren Rand des Leitbündels sind die Parenchymzellen nur wenig enger als jene des angrenzenden Speichergewebes, doch schließen sie lückenlos, d. h. ohne Vermittlung von Interzellularen, aneinander. Weiter nach außen werden sie englumiger und zeigen deutlich radiale Anordnung. Sie gehen in das kambiale Gewebe über, das die Grenze zwischen Holzteil und Siebteil einnimmt, sich aber im fertigen Bündel nicht mehr durch Teilung vermehrt. Der Siebteil besteht ebenfalls aus Parenchym (Bastparenchym), dessen Zellen sich nur durch gestreckte Form und lückenlosen Verband vor dem des benachbarten Speichergewebes auszeichnen und in denen Siebröhren und Geleitzellen in dünnen Strängen verlaufen. Jede Siebröhre läßt im Querschnitt neben sich 1—2 plasmareiche Geleitzellen erkennen, die bei Behandlung mit Jodjodkali besonders deutlich hervortreten. Beide Zellarten besitzen Zellulosemembranen, deren Kanten kollenchymatisch verdickt sind; ihre Lumina haben daher in Querschnitten die Form von Ellipsen oder Kreisen. Nicht alle Ringe lassen sich im ganzen Umkreis der Rübe

verfolgen, vielmehr sieht man öfters, besonders in der Gegend der Wurzelrinnen, zwei Ringe sich zu einem einzigen vereinigen; ein jüngerer Ringabschnitt erscheint hier somit einem älteren angesetzt. Schreitet man vom Mittelpunkt der Rübe ausgehend in der Richtung nach der Peripherie hin vor, so beobachtet man, daß der Abstand zwischen den einzelnen Kambialzonen und der Umfang der Holz- und Siebteile immer kleiner wird. Man gelangt so — gleichgültig, ob man eine ausgewachsene oder eine noch wachsende Rübe untersucht — zu einem Ring, der eben gerade die ersten Gefäße ausgebildet hat (Ring im Stadium der ersten Gefäße). An diesen grenzt noch ein jüngerer Ring, der noch keine Gefäße besitzt, in dem sich aber die ersten Siebröhren differenzieren (Stadium der ersten Siebröhren). Schließlich gelangt man zu dem jüngsten Ring, in dessen Anfangszellen (Initialen) die ersten Tangentialwände auftreten (Stadium der ersten Tangentialteilungen). — Außerhalb des jüngsten Rings bemerken wir das an diesen angrenzende Periderm (vgl. S. 313) der Rübe. Die peripheren Zellagen des Periderms bestehen aus dünnwandigen Korkzellen, die besonders nach Behandlung mit Sudan-Glyzerin (vgl. S. 296) deutlich hervortreten. Die Zellen des Korkgewebes werden infolge der Zunahme des Umfangs der Rübe tangential gestreckt, die jeweils äußersten zerreißen nach einiger Zeit und werden abgestoßen. Sie werden durch ein darunter liegendes Phellogen (vgl. S. 313) stetig ergänzt. In zentripetaler Richtung gliedert das Phellogen Phelloderm (s. S. 313) aus farblosen Parenchymzellen ab, die sich ebenfalls in tangentialer Richtung strecken, und je nach dem Grade der Streckung durch mehr oder weniger zahlreiche senkrechte Radialwände fächern.

Halbiert man eine Rübe der Länge nach, so kann man makroskopisch, besser noch mit Hilfe einer Lupe, feststellen, daß die konzentrischen Bündelringe sich nach dem unteren, verjüngten Ende der Rübe zu vereinigen und ebenso an dem oberen Ende in gegenseitige Verbindung treten; im übrigen Verlauf bleiben sie vollständig getrennt. — Die mikroskopische Betrachtung des radialen Längsschnittes lehrt, daß alle Gefäße der sekundären Zuwachszonen netzförmig verdickt sind. Die parenchymatischen Elemente, welche die Gefäße in den Bündeln trennen, sind nicht höher und auch sonst nicht anders gestaltet, nur vorwiegend schmäler als die Parenchymzellen des Zwischengewebes. Die gleiche Höhe zeigt auch das Parenchym des Siebteils und die darin eingeschalteten Glieder der Siebröhren und Geleitzellen. Die geringe Höhe dieser Elemente bringt es mit sich, daß zahlreiche Siebplatten gleichzeitig zur Anschauung kommen. Nach Jodbehandlung treten die Geleitzellen mit ihrem sich gelbbraun färbenden Inhalt deutlich hervor. Behandelt man Schnitte mit Korallinsoda, so beobachtet man, daß ein Teil der Siebplatten mit sich rosa färbender Kallose bedeckt ist. Diese kann in den Siebröhren schon sehr frühzeitig auftreten. Man findet sie zuweilen sogar in Ringen, in welchen sich gerade die ersten Siebröhren gebildet haben und die noch keine Gefäße besitzen. Besonders viel Kallosebelege findet man in den Siebröhren des normalen (primären) Leitbündelrings kurz vor ihrer Obliteration.

Tangentiale Längsschnitte führen uns zahlreiche seitliche Verbindungen, sowohl zwischen den Gefäßen, als auch zwischen den Siebsträngen vor. Beide Systeme stellen sich somit innerhalb eines jeden Rings als je ein kontinuierliches Netzwerk dar. Das Studium der Siebröhren wird auf den tangentialen Schnitten besonders leicht. Man stellt fest, daß die Geleitzellen vielfach quer geteilt sind und alsdann nur die halbe Höhe des

zugehörigen Siebröhrengliedes besitzen. Meist hängen die Geleitzellen der aufeinanderfolgenden Siebröhrenglieder zusammen, doch kommt es auch stellenweise vor, daß sie nicht aufeinander treffen.

Über die Entstehungsweise der überzähligen Leitbündelringe in der Zuckerrübe kann nur die entwicklungsgeschichtliche Untersuchung Aufschluß geben. Die jüngsten Stadien — Keimlingswurzeln unmittelbar nach der Keimung — werden am besten an Mikrotomschnitten untersucht, und zwar an Material, das in einem Flemmingschen Gemisch (s. S. 64 ff) fixiert und mit Eisen-Hämatoxylin (S. 86 ff), kombiniert mit Safranin gefärbt wurde. Etwas ältere Stadien — 2 bis 3 Wochen alte Keimpflanzen — kann man leicht in Töpfen heranziehen.

Ein Querschnitt durch die sehr junge Wurzel zeigt außen die Epidermis. Dann folgt die primäre Rinde, welche mit der Endodermis an den Zentralzylinder grenzt. Die primäre Rinde und die Epidermis geht im Verlauf der normalen Entwicklung der Rübe zugrunde. Die Rinde der Wurzel und des unteren Teils des Hypokotyls wird abgestoßen, die Rinde des oberen Teils des Hypokotyls bleibt in vertrocknetem Zustand an der Oberfläche des Rübenkörpers längere Zeit haften; ihre Reste sind bei 13 bis 16 Blätter tragenden Pflanzen nur noch schwer zu erkennen. An der Bildung des späteren Rübenkörpers können also nur noch die Gewebe des Zentralzylinders beteiligt sein.

Der Zentralzylinder wird gebildet: 1. Aus dem primären Holz, das den Mittelpunkt des Querschnittbildes einnimmt. Die zuerst angelegten Gefäße liegen in einer Ebene, die man sich durch die beiden Wurzelrinnen gelegt denken kann, und bilden die primäre Holzplatte (Protoxylem). Die rechts und links angrenzenden, später gebildeten Gefäße bilden das Metaxylem. 2. Dem primären Bast, der im Querschnitt in Form zweier halbmondförmiger Figuren rechts und links von der primären Holzplatte liegt. 3. Dem Perizykel. Der normale Bündelring entsteht aus einer Reihe von Zellen des Zentralzylinders, welche auf der Grenze von primärem Holz und primärem Bast liegen und zu Kambiummutterzellen werden. Diese Zellenreihe wird vor den Kanten der primären Holzplatte durch je 2—4 Zellen des Perizykels zu einem geschlossenen Kreise ergänzt. Die Kambiummutterzellen gliedern nun in zentripetaler Richtung Holz-, in zentrifugaler Richtung Bastzellen ab. Das so entstehende sekundäre Holz schließt sich unmittelbar an das primäre Holz an und bildet mit diesem zusammen einen Holzzylinder, dessen Querschnittsbild gewöhnlich als Stern der Rübe bezeichnet wird. Vor den Kanten der primären Holzplatte wird von den Perizykelzellen kein Holz und Bast, sondern nur Parenchym gebildet; diese Parenchymmassen bilden die primären Markstrahlen.

Die Kambiummutterzellen für den ersten überzähligen Leitbündelring leiten sich entwicklungsgeschichtlich von dem Parenchym des primären Bastes ab. Während der Tätigkeit des normalen Kambiumrings, noch ehe von diesem die ersten Siebröhren gebildet werden, treten in dem Parenchym des primären Bastes auffallende Veränderungen ein. Nahezu kreisförmig angeordnete Parenchymzellen beginnen sich zu vergrößern und vorwiegend tangential und radial zu teilen, während die zwischen ihnen liegenden Siebröhren und Geleitzellen der Obliteration verfallen. Diese Bastparenchymzellen sind zu Kambiummutterzellen für den ersten überzähligen Leitbündelring geworden. Die Reihe der Kambiummutterzellen wird im Bereich der primären Markstrahlen durch Zellen dieser Strahlen zu einem geschlossenen Kambiumring ergänzt. Der Kambiumring bildet nach innen

Holz-, nach außen Bast- und in beiden Richtungen sekundäres Markstrahlgewebe. Die zuerst nach außen abgegebenen parenchymatischen Elemente beginnen sich unmittelbar nach ihrer Entstehung, während der erste überzählige Kambiumring seine Tätigkeit entfaltet, durch tangentiale und radiale Wände zu teilen und nach innen und außen Leitbündel- und Markstrahlgewebe zu produzieren. Es entsteht der zweite überzählige Leitbündelring, der nun seinerseits wieder den dritten überzähligen Ring in gleicher Weise entstehen läßt und so fort. Dieser Vorgang wiederholt sich soviel mal, als Bündelringe gebildet werden. Die Anlage eines Rings erfolgt also nicht erst, wenn die Tätigkeit des nächstälteren erloschen ist, oder zu erlöschen beginnt, sondern wenn dieser seine Tätigkeit gerade begonnen hat. Über die Dauer der Kambiumtätigkeit in den einzelnen Ringen liegen noch keine Untersuchungen vor.

Die von jedem überzähligen Kambiumring zuerst nach innen, sowie die nach außen abgegebenen Parenchymzellen, soweit sie nicht für das Kambium des nächstjüngeren Rings verwendet werden, beginnen, nachdem sie eine Zeitlang geruht haben. sich von neuem zu teilen. Ferner obliterieren die älteren (zuerst gebildeten) Siebröhren und Geleitzellen, und die zwischen ihnen liegenden Parenchymzellen beginnen sich ebenfalls zu teilen. Durch diese Vermehrung und Vergrößerung der zwischen den einzelnen Ringen liegenden parenchymatischen Elemente, welche sich zuerst vorwiegend tangential, später in allen Richtungen des Raums teilen, entsteht ein parenchymatisches, aus rundlichen Zellen zusammengesetztes Gewebe, das parenchymatische Speichergewebe der Rübe.

Früher oder später, je nachdem wir Wurzel oder Hypokotyl ins Auge fassen und je nach dem Verlauf des Absterbens der primären Rinde beginnen sich die Zellen des Perizykels durch tangentiale und radiale Wände, meist vorher noch durch je eine horizontale Wand, zu teilen. Es entsteht aus dem einschichtigen Perizykel ein mehrschichtiger Gewebekörper. Dieser stellt das Bildungsgewebe (Etagenkambium) für das Periderm der Rübe dar. Die peripheren Zellschichten verkorken, die zentralen werden zu Phellodermzellen, während eine mittlere Schicht von Zellen ihre Teilungen fortsetzt und beide Gewebearten ergänzt. Die Teilungswände der Phellogenzellen sind senkrecht, und zwar radial und tangential gerichtet.

Die hier beschriebene Entstehungsart für überzählige Bündelringe und für das Periderm gilt in der Regel nur für die ganze Wurzel und den unteren Teil des Hypokotyls. Was hier Regel ist, wird im oberen Teil des Hypokotyls zur Ausnahme. Da entsteht der erste überzählige Ring meist aus den inneren Zellen des durch Teilung aus dem Perizykel enstehenden Gewebekörpers, der, wie wir sahen, in der Wurzel ausschließlich das Periderm liefert. In diesem Fall kann also nur ein Teil der Zellen dieses Gewebekörpers an der Bildung des Periderms beteiligt sein. Auch können sich gelegentlich beide Entstehungsarten für Ring und Periderm in derselben Höhenlage, also in dem gleichen Querschnittsfeld, und zwar sowohl in der Wurzel wie im Hypokotyl kombinieren[1]).

Wählt man eine rote Rübe zur Untersuchung, so wird man das Parenchym mit rosenrotem Zellsaft erfüllt finden. Frei von dem roten Zellsaft sind die in Tätigkeit befindlichen Kambiumringe, die daher auch scharf in dem Bilde hervortreten, außerdem das Parenchym der Gefäßteile und der an dieses stoßenden, älteren Kambiumteile.

[1]) A. DE BARY, Vergl. Anatomie, 1877, S. 616. R. SEELIGER, Arb. d. Biol. Reichsanst. f. Land- u. Forstwirtsch., Bd. X, 1920, S. 149 ff.; dort auch die neuere Lit.

XIII. Abschnitt.

Die Leitbündelstränge der Pteridophyten.

Interzellulare Strukturen aus Pektinstoffen. Bau der Wurzeln bei Pteridophyten.

Untersuchungsmaterial.

Junge Blattstiele oder junge Rhizome von Pteridium aquilinum, frisch oder in Alkohol. Stengel von Lycopodium complanatum oder einer anderen Lycopodium-Art, frisch oder in Alkohol.

Vegetative Sprosse von Equisetum arvense oder einer anderen Equisetum-Art.

Wichtigste Reagentien und Farbstoffe.

Glyzerin. — Safranin. — Anilinblau.

Wir wollen uns jetzt mit dem Bau der „konzentrischen" Leitbündel[1]) im Stamm und in den Blättern der Gefäßkryptogamen bekannt machen.

Als Untersuchungsobjekt wählen wir den Adlerfarn (Pteridium aquilinum) aus. Hier ist das Verständnis des Leitbündelbaues mit am leichtesten zu gewinnen, wenn auch das Objekt wegen der zahlreichen Sklerenchymfasern im Grundgewebe sich nicht eben leicht schneiden läßt. Am besten gelingen Schnitte durch das Rhizom dicht unter seinem Vegetationspunkt oder durch den Stiel noch junger Blätter. Die Leitbündel wird man in solchen Schnitten schon fertig entwickelt finden, während die charakteristischen Verdickungen des Grundgewebes noch fehlen. Der Bau der Leitbündel im Rhizom gleicht dem im Blattstiel. Die Fig. 143, die von einem aus der Basis eines Blattstiels gewonnenen Präparat stammt, soll zur Orientierung dienen. Freilich mußte, der Raumverhältnisse wegen, ein kleineres Leitbündel zur Darstellung gewählt werden; doch ließen sich alle in seinen Bau eingehenden Elemente hinreichend bequem in dem Bild vorführen. Zunächst fallen die großen, behöft getüpfelten Treppengefäße (*sc*) in die Augen. Sie grenzen zum großen Teil direkt aneinander und werden gemeinsam von stärkehaltigen Vasalparenchymzellen (*lp*) umgeben. An einer Stelle in dem abgebildeten Leitbündel, auch wohl an mehreren Stellen größerer Bündel, liegen einige mehr oder weniger desorganisierte Vasalprimanen (*sp*). An das Vasalparenchym grenzen im Umkreis die weitlumigeren Siebröhren (*v*). Auf diese folgen eiweißhaltige Kribralparenchymzellen (*s*), die im Umkreis von den zum Teil

---

[1]) Von PH. VAN TIEGHEM „Stelen" genannt. Vgl. VAN TIEGHEM u. H. DOULIOT, Ann. d. sc. nat., Bot., 7. sér., T. III, S. 275, u. VAN TIEGHEM, Traité de Bot., 2 Aufl., S. 764. Vgl. dazu auch J. C. SCHOUTE, Die Stelärtheorie, Groningen 1902, bzw. Leipzig 1903, ferner F. J. MEYER, Progressus rei bot., Bd. V, 1917, S. 521 ff., und Derselbe, Beih. z. bot. Zentralbl., 1. Abt., Bd. XXXIII, 1917, S. 129 ff.

gequollenen Kribralprimanen (*pr*) umschlossen werden. Alle diese Gewebe werden von einer einschichtigen, stellenweise mehrschichtigen Lage stärkehaltiger Zellen (*pp*) umfaßt, die in radialer Richtung etwas gestreckt erscheinen[1]). Auf sie folgt eine inhaltsarme, flachzellige, mit den schwarzen Schatten an den radialen Wänden versehene Endodermis (*e*). Die Stärkeschicht und die Endodermis sind gleichen Ursprungs; sie gehen hier durch Teilung aus einer angrenzenden Zellschicht des Grundgewebes hervor. Nicht selten wird der Schnitt die

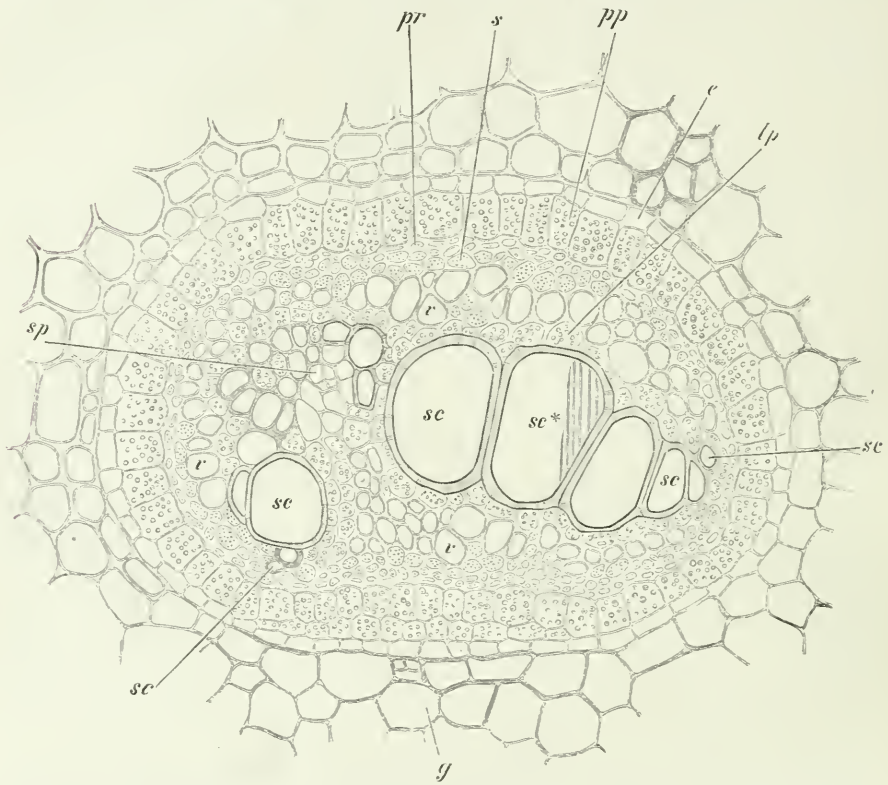


Fig. 143. Querschnitt durch ein Leitbündel aus dem Blattstiel von Pteridium aquilinum. *sc* Treppengefäße, im Treppengefäß *sc** Stück einer leiterförmig durchbrochenen Wand, *sp* Vasalprimanen, *lp* Vasalparenchym, *v* Siebröhren, *s* Kribralparenchym, *pr* Kribralprimanen, *pp* Stärkeschicht, *e* Endodermis, *g* verdickte Zellen des Grundgewebes. Vergr. 240.

leiterförmig durchbrochene Scheidewand eines Gefäßes getroffen haben, die alsdann so wie in unserer Figur (bei *sc**) aussieht. Sehr häufig zerreißen die Wände der Endodermiszellen beim Schneiden, wodurch das Leitbündel von dem umgebenden Grundgewebe getrennt wird. Die an die Endodermis grenzenden Zellen dieses Grundgewebes sind stellenweise stark verdickt (bei *g*) und dann gelbbraun gefärbt. — Der Querschnitt durch das Rhizom zeigt unter der tiefbraunen Epidermis ein gebräuntes, parenchymatisches Gewebe, das weiter nach innen farblos und stärkereich ist. Dieses stärkereiche Grundgewebe

[1]) A. C. Hof, Abh. d. Senckenberg. Naturf. Ges., Bd. XXXI, 1913, S. 477.

wird von den Leitbündeln und von rotbraunen Sklerenchymfasern durchsetzt. Letztere bilden zwischen den Leitbündeln Platten, die mehr oder weniger parallel zu ihnen verlaufen. Die peripherisch liegenden Leitbündel werden an ihrer Außenseite, im unmittelbaren Anschluß an die Endodermis, von eben solchen Sklerenchymfasern gestützt. — Im Blattstiel sind die Verhältnisse ähnlich; hinzu kommt dort noch ein hypodermaler Ring rotbrauner Sklerenchymfasern, der sich an die Epidermis lehnt. — Der Längsschnitt durch das Rhizom oder den Blattstiel führt uns vor allem die weiten Treppengefäße wieder vor. Ihre Endflächen sind stark geneigt, leiterförmig behöft getüpfelt, z. T. durchbrochen. An den zwei Gefäße trennenden Seitenwänden ist jetzt auch leicht festzustellen, daß die quer gestreckten Tüpfel zweiseitig behöft und von einer Schließhaut durchzogen sind[1]). An der Gefäßwand, die an eine Holzparenchymzelle grenzt, ist hingegen der Hof nur einseitig, und zwar auf der Gefäßseite, entwickelt. Der Längsschnitt hat meist die eine oder die andere Schraubentracheïde getroffen, und es sind auch wohl an ihm die Siebröhren, doch nur bei sorgfältigster Untersuchung, zu entdecken. Die Siebplatten können wir mit Hilfe von Anilinblau etwas deutlicher machen und feststellen, daß sie an den Enden der Siebröhrenglieder stark geneigt und durch Verdickungsleisten in zahlreiche Siebfelder geteilt sind. Außerdem tragen die Seitenwände der Siebröhren noch rundliche Siebfelder[2]). Neben den Siebröhren erkennt man die eiweißreichen Kribralparenchymzellen, neben den Gefäßen die stärkeführenden, relativ kurzen Vasalparenchymzellen. Diesen ähnlich gestaltet sind die Zellen der peripherischen Stärkeschicht. Die rotbraunen, langen, zugespitzten Sklerenchymfasern des Grundgewebes zeigen feine Poren in ihren Wänden.

Die charakteristische rotbraune Färbung der Sklerenchymfasern bei den Farnen und auch den Moosen wird durch einen Stoff bedingt, der chemisch noch wenig definiert ist, zu den Phlobaphenen zu gehören scheint[3]) und, da er besonders in den scheidenbildenden Zellen auftritt, als V a g i n bezeichnet wurde[4]).

In relativ größerer Komplikation tritt uns der axile Zentralzylinder der Lycopodium- (Bärlapp-) Arten entgegen. Doch dürfte dessen Verständnis uns nicht mehr allzu schwer fallen, nachdem wir die konzentrischen Leitbündel der Farne kennen gelernt haben. In der Tat liegt nämlich bei Lycopodium eine Verschmelzung zahlreicher, ähnlich wie bei den Farnen gebauter, konzentrischer Leitbündel zu einem axilen Strang vor. Wir wählen zur Untersuchung den flachen Bärlapp, L y c o p o d i u m c o m p l a n a t u m , doch könnte eine andere Lycopodium-Art ebensogut von uns benutzt werden. Denn bei allen Arten von Lycopodium kehren die nämlichen Verhältnisse mit unwesentlichen Abweichungen wieder. Wir erleichtern uns etwas die

[1]) F. HALFT, Diss. Bonn 1910, und N. BANCROFT, Ann. of Bot., Bd. XXV, 1911, S. 745.

[2]) Näheres bei E. M. HUME, Ann. of Bot., Vol. XXVI, 1912, S. 573 ff.

[3]) G. WALTER, Bibliotheca Botanica, H. 18, 1890; vgl. auch G. POIRAULT, Ann. d. sc. nat., Bot., 7. sér., T. XVIII, 1893, S. 127, und G. KARSTEN, Ann. du Jardin bot. de Buitenzorg, Bd. XII, 1894, S. 174.

[4]) P. BÄSECKE, Bot. Ztg., LXVI. Jahrg., 1908, S. 58. Über sein Verhalten Reagentien gegenüber vgl. Reg. IV und O. TUNMANN, Pflanzenmikrochemie, Berlin 1913, S. 613.

Aufgabe, wenn wir die Querschnitte gleich mit wässriger Safraninlösung färben. Zur Orientierung soll auch hier die folgende Skizze (Fig. 144) dienen. Wir finden danach am Querschnitt von Lycopodium complanatum zu äußerst die Epidermis (*ep*); dann die Rinde, deren Zellen zunächst weitlumig sind, aber nach innen zu an Weite ab-, an Dickwandigkeit zunehmen und so eine feste, sklerenchymatische Scheide (*ve*) bilden. Die äußeren Rindenzellen haben sich mit Safranin mehr kirschrot, die inneren, stark verdickten, mehr rosenrot gefärbt. Die verdickten Elemente der Rinde hören plötzlich auf, und es folgen zwei bis drei Schichten tangential etwas gestreckter, lückenlos verbundener, polygonaler Zellen, die sich kirschrot gefärbt zeigen (*vi*). Weiter folgen mehrere Schichten ebenso weitlumiger, im Querschnitt isodiametrischer, öfters Stärke enthaltender Zellen, mit weißglänzenden, wie gequollen erscheinenden Wänden (*pp*). Diese haben sich bei kurzer Einwirkung nicht, bei längerer orangerot gefärbt. Sie bilden die innersten Lagen der Rinde. Nunmehr fallen uns die schön kirschrot gefärbten Vasalstreifen auf. Sie bestehen aus unmittelbar aneinander schließenden, weiten Treppengefäßtracheïden (*sc*) und an ihren schmalen Kanten aus englumigen Vasalprimanen (*sp*). Echte Gefäße mit durchbrochenen Querwänden gehen den Lycopodiaceen ab; wenn wir trotzdem die von diesen Elementen gebildeten Streifen als Vasalteile bezeichnen, so ist es, um deren Gleichwertigkeit mit dem Gefäßteil der anderen Gefäßpflanzen zu betonen. Die Vasalstreifen erscheinen bei Lycopodium complanatum innerhalb des Zentralzylinders quer orientiert und laufen mehr oder weniger parallel zueinander. Sie sind auf der einen Seite etwas konkav, auf der anderen entsprechend konvex, und man kann feststellen, wenn man die natürliche Lage des am Boden hinkriechenden Stengels berücksichtigt, daß die Streifen der Bodenfläche parallel liegen und mit der konkaven Seite nach oben gekehrt sind. Die kleinen Leitbündel der Blätter setzen, nachdem sie in den Zentralzylinder eingetreten sind, an die Kanten der Vasalstreifen an. Die Vasalstreifen gehen nicht selten Anastomosen ein, wie dies beispielsweise an den unteren Streifen der obenstehenden Skizze zu sehen ist. In den aufrechten Stengeln des Tannen-Bärlapp, Lycopodium Selago, stoßen die Vasalteile in der Mitte des Zentralzylinders zusammen und bilden einen Stern. — Die Vasalteile sind von einer einfachen Lage dünn-

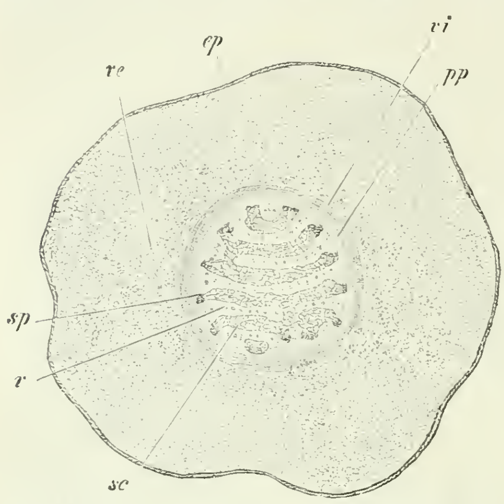


Fig. 144. Querschnitt durch den Stengel von Lycopodium complanatum. *ep* Epidermis; *ve* äußere Rindenscheide; *vi* innere Rindenscheide; *pp* innerste Rindenschichten; *sc* Treppengefäßtracheïden; *sp* Ring- und Schraubengefäßtracheïden; *v* Siebteile. Vergr. 26.

wandiger, englumiger Zellen, die wir, wie bei den Farnen, als Vasalparenchymzellen bezeichnen können, umgeben. Mitten zwischen den von den Vasalteilen gebildeten Streifen liegen Zellen mit weißen, stark lichtbrechenden Wänden. Sie sind englumig; nur eine mittlere Reihe zeichnet sich durch etwas größeren Durchmesser aus. Sie bilden den Siebteil; die weitesten Elemente in ihm sind die Siebröhren (*v*). Bei besonders günstiger Safraninfärbung erscheinen die Wände der Siebröhren rosenrot gefärbt, während die übrigen Elemente des Siebteils farblos geblieben sind. An den Kanten dieser Siebröhrenstreifen zeichnen sich die Kribralprimanen durch ihre Englumigkeit aus. Der Zentralzylinder löst sich leicht an der inneren Grenze der Rinde beim Schneiden ab. — Der Längsschnitt führt uns vor: zu äußerst die Epidermis, dann die schräg gegen diese verlaufenden, weiten Rindenzellen; weiter die Sklerenchymfasern der äußeren Rindenscheide; hierauf die innere Rindenscheide aus gestrecktem Parenchym; die innersten Rindenschichten mit ihren weißen, dickeren Seitenwänden und schräg gestellten Querwänden; die Treppentracheïden und die engen, z. T. sehr stark gedehnten Ring- und Schraubentracheïden; endlich auch die Elemente der Siebteile. Diese bestehen aus sehr langen Zellen, die mit mehr oder weniger schrägen Wänden aufeinander stoßen. Auch mit Hilfe von Anilinblau gelingt es hier nur sehr schwer, die relativ kleinen, schrägen Siebplatten nachzuweisen. Nur die weiteren Zellen im Siebteil sind Siebröhren; die viel zahlreicheren, engen, mit glänzend körnigem Inhalt erfüllten stellen eiweißführendes Kribralparenchym dar.

Doch gibt es auch Pteridophyten, deren Stamm bzw. Stengel einen einzigen Zentralzylinder und die Leitbündel in ähnlicher Anordnung wie bei Gymnospermen und Dikotylen aufweist. So ist es bei den Equiseten[1]). — Wir wollen eine Equisetum-Art näher untersuchen, und zwar den Ackerschachtelhalm, Equisetum arvense. Der Querschnitt durch ein älteres Internodium eines sterilen Halmes dieser Pflanze zeigt um das im Innern ausgehöhlte Mark, die Zentralhöhle, einen Kranz von Leitbündeln (Fig. 146). Diese Leitbündel weichen von dem Typus eines kollateralen, wie wir ihn früher (S. 224) kennengelernt haben, etwas ab. Wenn wir sie dennoch als kollateral bezeichnen, so findet das seine Berechtigung in der Entwicklungsgeschichte. Wie wir an unserem Querschnitt sehen können, liegen nämlich Gefäß- und Siebteil nebeneinander und zwar so, daß der Siebteil von zwei Gefäßteilen seitlich begrenzt wird (Fig. 145). Nach innen zu schließt sich an den Siebteil der hier als Karinalhöhle bezeichnete, wasserführende Interzellulargang (*cl*) an. In den Interzellulargang sieht man isolierte Ringe (*a*) hineinragen; andere stark gedehnte Ringgefäßtracheïden grenzen an ihn. Die Gefäßteile bestehen aus Vasalparenchym und aus einer Anzahl nicht gedehnter, gut erhaltener Gefäßtracheïden, die ring- und schraubenförmig verdickt sind[2]). Der Siebteil zeigt keine deutliche Abwechslung weiterer und engerer Elemente, besteht nichtsdestoweniger auch hier aus Siebröhren und Kribralparenchymzellen, und letztere sind schon im Querschnitt an ihrem reicheren Inhalt kenntlich. Auch schließt der Siebteil nach außen mit engen

[1]) Vgl. E. STRASBURGER, Leitungsbahnen, 1891, S. 442; s. a. F. J. MEYER, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LIX, 1920, S. 275 ff.

[2]) Ein kambiales Gewebe, aus dem diese Gefäßteilelemente hätten entstehen sollen, und das als Überbleibsel eines das Dickenwachstum bei den mit den Equiseten verwandten fossilen Kalamiten bewirkenden Kambiums gelten könnte, existiert hier nicht. Vgl. K. LUDWIGS, Flora, Bd. CIII, 1911, S. 400. Dort weitere Literaturangaben.

Kribralprimanen ab. Die Leitbündel grenzen nach außen an eine stärkeführende Zellschicht (Fig. 145 *am*), die als Perizykel zu deuten ist. Diese Schicht zeigt sich vor der Mitte der Bündel oft verdoppelt, im übrigen einfach; sie setzt nicht scharf gegen das Grundgewebe zwischen den Bündeln ab. Nach innen zu und nach den Seiten wird das Bündel von lückenlos verbundenen, sonst nicht besonders markierten Grundgewebezellen umscheidet. Auf den Perizykel folgt die Endodermis (*e*), die somit wie der Perizykel den ganzen Zentralzylinder des Stengels umschließt. Die Endodermis ist, wie auch sonst immer, einschichtig. Sie zeigt meist deutlich den CASPARYschen Streifen als dunklen Schatten an den radialen Wänden; im übrigen bleibt sie unverdickt und weist somit hier, wie auch überhaupt bei den Equiseten nur eine dem Primärzustand (vgl. S. 291, 292) entsprechende Entwicklung auf. Zusatz von konz. Schwefelsäure läßt den CASPARYschen Streifen als eine sich gelbbraun färbende, undulierte Leiste in den radialen Wänden der Endodermis scharf hervortreten. Die übrigen Partien der Endodermis, sowie alle anderen Gewebsteile, die Gefäßverdickungen ausgenommen, bleiben farblos und werden allmählich gelöst. Wie mit Phlorogluzin-Salzsäure, ferner mit Chlorzinkjod behandelte Schnitte lehren, reagiert der CASPARYsche Streifen hier, wie meist die verholzten Elemente. Er tritt wenigstens ebenso, wie die Wände der Tracheïden, mit karminroter bzw. gelber Färbung in den Präparaten hervor. Im sterilen Halm der Equiseten finden sich weiter keine verholzten Teile. Im übrigen geben nach PLAUT[1]) die CASPARYschen Streifen hier die für sie bei anderen Pflanzengruppen als charakteristisch angegebenen Reaktionen (vgl. dieses Praktikum S. 292). Eine gute, dauernde Doppelfärbung läßt sich erzielen, wenn man einen in Rutheniumrot gefärbten Schnitt in Methylenblau-Glyzerin (0,2 g Methylenblau, 10 ccm Alk. abs., 40 ccm konz. Glyzerin) überführt, wonach sich der Streifen blau, die Membran rot gefärbt zeigt. Auf die Endodermis folgt nach außen großzellige Rinde. Diese führt in mit den Gefäßbündeln alternierenden Radien weite Interzellulargänge, Luftlücken, die sog. Vallekularhöhlen. Die Oberfläche des Stengels zeigt vor-

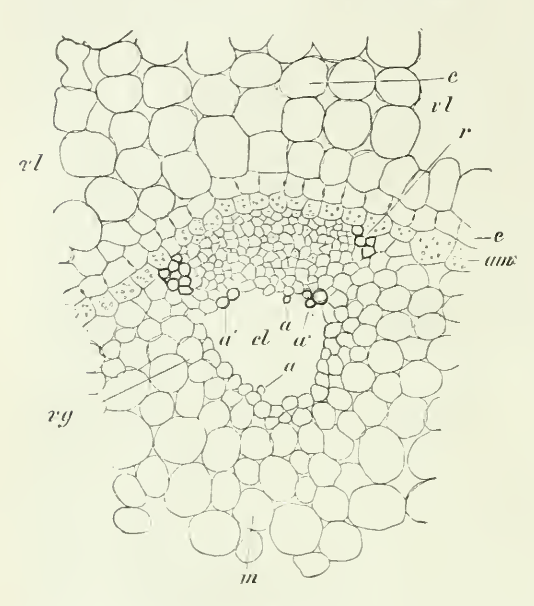


Fig. 145. Teil eines Querschnittes durch das Internodium eines sterilen Halms von Equisetum arvense, ein Leitbündel und das angrenzende Gewebe, zeigend. *a* isolierte Ringe von Gefäßtracheïden, *a'* gedehnte Ringgefäßtracheïden, den Vasalprimanen angehörend, *r* Ringgefäßtracheïden an den Seiten des Siebteils, *cl* Karinalhöhle, *vg* Leitbündelscheide, *m* Markgewebe, *am* stärkehaltige Schicht (Perizykel), *e* Endodermis, *c* Rinde, *vl* angrenzende Vallekularhöhlen. Vergr. 90.

[1]) M. PLAUT, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVII, 1910, S. 166.

springende Leisten und einspringende Täler, die sog. Riefen (carinae) und Rillen (vallecula). Die Riefen liegen vor den Leitbündeln; hier ist die Epidermis ohne Spaltöffnungen und durch einen hypodermalen Sklerenchymfaserstrang gestützt. Unter diesem Strang liegt das chlorophyllhaltige, lockere Parenchym und gelangt zu dessen beiden Seiten bis an die Epidermis. Hier befinden sich auf den Böschungen der Riefen Spaltöffnungen, während die Mitte der Rille wieder spaltöffnungslose Epidermis und sklerenchymatisches Hypoderma, wenn auch in schwächerer Entwicklung, zeigt. — Radiale Längsschnitte, die ein Bündel median trafen, vervollständigen die Untersuchung. Sie zeigen uns zunächst die Karinalhöhlen mit den angrenzenden, gestreckten Vasalparenchymzellen und den mehr oder weniger desorganisierten Gefäßtracheïden; alsdann den Siebteil, in dem wir, namentlich nach Jodjodkaliumbehandlung, unschwer die kürzeren, inhaltsreichen Kribralparenchymzellen von den langen, inhaltsarmen Siebröhren unterscheiden können. Ist ein Bündel am Rand gestreift worden, so zeigt uns der Schnitt eine seitliche Gefäßtracheïdengruppe. — Der ganze bei Betrachtung des Querschnittes geschilderte Bau soll uns durch die beigefügte Skizze (Fig. 146) vergegenwärtigt werden. Diese zeigt uns, von innen nach außen fortschreitend: das durch Zerreißen, also lysigen, ausgehöhlte, nicht selten innerhalb der Höhlung Wasser führende Mark (*m*); den Kranz von kollateralen Leitbündeln mit den Karinalhöhlen (*cl*); die Endodermis (*e*); die Rinde mit den Vallekularhöhlen (*vl*); die Riefen mit den Sklerenchymfasersträngen (*hp*); das darunter befindliche chlorophyllhaltige Gewebe (*ch*), das zu den Seiten der Sklerenchymfaserstränge die Epidermis erreicht; diesen Stellen entsprechend die Spaltöffnungen (*st*); endlich unter der Mitte jeder Rille einen Sklerenchymfaserstrang (*hp*).

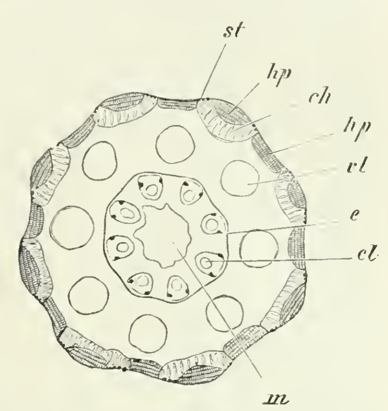


Fig. 146. Querschnitt durch das Internodium eines sterilen Halms von Equisetum arvense. Die Erklärung der Buchstaben im Text. Vergr. 11.

Die physiologischen Vorteile, die sich aus der eben geschilderten Anordnung der Gewebe im Stengel von Equisetum ergeben, sind so in die Augen fallend, daß wir sie nicht ganz unberücksichtigt lassen dürfen. Da der Stengel biegungsfest gebaut sein soll, so sehen wir die am stärksten verdickten Elemente in Gestalt von Sklerenchymfasersträngen möglichst weit nach außen, nämlich in die vorspringenden Riefen rücken. Sie bilden hier Gurtungen, die mit den gegenüberliegenden zu Trägern zusammentreten. Unterstützt werden diese Gurtungen durch andere, schwächere, die im Grunde der Rillen verlaufen. Letztere haben zugleich noch die Aufgabe, die entsprechenden Stellen der Stengeloberfläche zu versteifen und die unter ihnen befindlichen Vallekularhöhlen zu schützen. Die vorspringenden Sklerenchymstränge decken ihrerseits das chlorophyllführende, der Assimilation dienende Gewebe, das an den gegen mechanische Angriffe geschütztesten Orten, nämlich an den Böschungen der Rillen die Stengeloberfläche erreicht. So wird hier in für die Pflanze vorteilhaftester Weise, der Antagonismus des Assimilationssystems, dessen Elemente zu Licht und

Luft nach der Oberfläche streben, und des mechanischen Systems, das in biegungsfesten Organen möglichst peripherisch liegen soll, geschlichtet. Die Endodermis um den Zentralzylinder dient andererseits dazu, diesen gegen die Rinde luftdicht abzuschließen. Der CASPARYsche Streifen auf den radialen Wänden besorgt diesen Abschluß und verhindert die Bildung von Interzellularen.

Würden wir an Stelle eines sterilen Halms von Equisetum arvense einen fertilen in Untersuchung nehmen, so fänden wir dessen Bau, entsprechend seiner weit kürzeren Lebensdauer, vereinfacht. Sein mechanisches System ist ganz unentwickelt, dem Chlorophyllmangel der Gewebe entspricht das Fehlen der Spaltöffnungen in der Epidermis; die inneren Strukturverhältnisse weichen sonst in ihrem Bau nur wenig ab[1]).

Sehr lehrreich ist es auch, die dünnen Seitenäste des sterilen Halms in Untersuchung zu nehmen und ihren Bau mit jenem des Hauptstamms zu vergleichen. Diese Seitenäste sind assimilatorischen Aufgaben besonders angepaßt, und ihre Oberfläche ist demgemäß durch Ausbildung von vier über Kreuz gestellten Flügeln nicht unwesentlich vergrößert. Diese Flügel zeigen an ihrer äußersten Kante einen dünnen Sklerenchymfaserstrang; sonst wird ihr gesamter, von der Epidermis überzogener Körper von chlorophyllhaltigen, in radialer Richtung gestreckten Parenchymzellen gebildet. Diese biegen von ihrem radialen Verlauf nur unter den Spaltöffnungen nach den Flanken der Flügel aus, um die Atemhöhlen zu umgrenzen. Vallekularhöhlen sind in schwacher Ausbildung am Grunde der Einschnitte zwischen den Flügeln zu finden oder fehlen auch gänzlich. Innerhalb der leicht unterscheidbaren Endodermis, bis zu der das assimilatorische Gewebe der Flügel reicht, treten uns ähnliche Verhältnisse wie im Hauptstamm entgegen. Vier Leitbündel sind vorhanden, die in denselben Radien wie die Flügel liegen. Jedes Bündel führt eine kleine Karinalhöhle; das Mark ist nicht ausgehöhlt. — An jedem Knoten der Seitenäste findet sich ein Quirl von vier Schuppenblättern, die an ihrer Basis zu einer Scheide verwachsen sind. Die Flügel an den Internodien entsprechen in ihrer Orientierung den Medianen der Blätter der zugehörigen Blattwirtel und alternieren dementsprechend an den aufeinanderfolgenden Internodien.

In der Höhe der Knoten sind in den Stengeln der Equiseten Diaphragmen ausgespannt, von denen wir möglichst zarte Querschnitte ausführen wollen, um sie bei starker Vergrößerung zu untersuchen. Es zeigen sich nämlich hier, von der Außenfläche der Zellen, innerhalb der Rinde, in die Interzellularen hineinragend, sehr schön ausgebildete Stäbchen, die Pektinstoffe[2]) enthalten. Ähnliche Bildungen sind in den Interzellularen nicht selten. Leicht lassen sie sich beobachten zwischen den Parenchymzellen auf Längsschnitten durch den Blattstiel von Pteridium aquilinum oder Blechnum brasiliense oder Helleborus foetidus. In manchen Fällen können die Pektinstoffe in den Interzellularen als gallertartige Tröpfchen auftreten. So zeigt es sich bei vielen Liliaceen und Amaryllideen, besonders schön an den Blütenstielen von Narcissus Pseudo-Narcissus.

Der Bau der Wurzeln bei den Pteridophyten ist im wesentlichen derselbe wie bei den Phanerogamen. Nur stimmt die Peripherie des Zentral-

[1]) Näheres bei J. M. P. BROWNE, Ann. of Bot., Bd. XXVI, 1912, S. 663 ff.; s. a. F. J. MEYER, l. c., 1920, S. 279.

[2]) Vgl. S. 174 ff. wegen Nachweis und Färbung der Pektinverbindungen.

zylinders der Wurzel darin mit der Peripherie der von uns untersuchten Farnleitbündel überein, daß auch an dessen Oberfläche die innerste Rindenschicht sich verdoppelt, und deren innere Lage den Perizykel vertritt, während die äußere als Endodermis ausgebildet wird.

Die Epidermis der Equiseten ist mehr oder minder stark verkieselt, was die Herstellung guter Schnitte oft sehr erschwert. Die Kieselablagerungen lassen sich aber mit verd. Fluorwasserstoffsäure lösen[1]. Das wird namentlich dann von Bedeutung werden, wenn man den Wunsch hat, die Zellen kieselsäurehaltiger Objekte an Mikrotomschnitten zu untersuchen. Bei vorsichtiger Behandlung bleiben dabei sogar die Protoplasmabestandteile gut erhalten. Das Entkieseln nimmt man am besten unter dem Abzug oder im Freien, jedenfalls aber nicht in den Mikroskopierräumen vor, da die Linsen der optischen Instrumente von den das Glas stark angreifenden Fluorwasserstoff-Dämpfen leiden könnten. Will man den Vorgang der Entkieselung unter Mikroskop studieren, so klebe man, um die schädliche Wirkung der Dämpfe von dem Objektiv abzuhalten, auf dessen Frontlinse mit Zedernholzöl ein dünnes Glimmerplättchen auf. Dies schützt die Linse hinreichend, ohne ihre optische Leistung merklich herabzusetzen. Die Entkieselung des Objekts wird auf einem Glimmerplättchen ausgeführt, das auf einen Objektträger geklebt ist, den man im übrigen mit Wachs überzogen hat. Zu dem Präparat, das in wenig Wasser liegt, werden mit einem Silber- oder Platinstab 1 bis 2 Tropfen Fluorwasserstoffsäure gegeben und dieses hierauf mit einem zweiten, hinlänglich großen Glimmerplättchen bedeckt[2]. Bei der Beobachtung schützt man die Atmungsorgane zweckmäßig mit einer Hauchschirm-ähnlichen Einrichtung (s. S. 9). — Die Kieselablagerungen können auch unmittelbar als solche erkannt werden, wenn man die kieselsäurehaltigen Objekte in Medien untersucht, deren Brechungsexponent von dem der Kieselsäure abweicht, wie z. B. Benzol, Chloralhydrat, Phenol und Monobromnapthalin[3], schließlich Eugenol[4]. Sie fallen dann durch einen eigenartigen rötlichen oder bläulichen Glanz auf, der auch an den feinsten und nur schwach verkieselten Membranen nicht fehlt und sich lediglich durch den Brechungsunterschied zwischen Objekt und Untersuchungsmedium erklären dürfte. Der rötliche Glanz erscheint um so stärker, je größer der Brechungsindex des Untersuchungsmediums ist. — Schöne Kieselskelette der Epidermis können wir erhalten, wenn wir Schnitte von Sproßteilen der Equiseten glühen oder mit bestimmten Säuren behandeln[5].

[1]) Vgl. das im XX. Abschn. dieses Praktikums für Diatomeen angegebene Entkieselungsverfahren, ferner F. A. F. C. WENT, Verh. d. Kon. Ak. van Wetensch., Tweede Sect., Deel XVI, 1910, S. 4.

[2]) Im wesentlichen nach J. DEBY, Journ. Quek. Micr. Club, Bd. II, 1886, S. 310, und Journ. de Microgr. von Pelletan, 1886, S. 418.

[3]) E. KÜSTER, Botan. Zentralbl., Bd. LXIX, 1897, S. 46 ff., und Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XV, 1897, S. 136—138.

[4]) E. NAUMANN, Botan. Notiser, 1916, S. 197.

[5]) Näheres bei S. MILIARAKIS, Die Verkieselung, Würzburg 1884; s. a. den XX. Abschn. dieses Praktikums.

XIV. Abschnitt.

Periderm. Kork. Lentizellen. Suberin. Kutin, kutisierende Stoffe.

Wundgummi. Gummosis.

Untersuchungsmaterial.

Noch grüne, sowie grau werdende und braun gewordene Zweigstücke von Sambucus nigra, evtl. in Alkohol. — Stücke älterer Zweige von Laburnum vulgare. — Flaschenkork. — Stücke jüngerer und älterer Zweige von Ribes rubrum.

Ältere Stammstücke der Kiefer. Kartoffelknollen. Ältere Stammstücke des Kirschbaums. Gummikranke Stücke des Kirschbaums.

Wichtigste Reagentien und Farbstoffe.

Frisch bereitete, konz. alkohol. Chlorophyllösung. — Chlorzinkjodlösung. — Alkanna. — Sudan-Glyzerin. — Konz. Kalilauge. — Chlorsaures Kali und Salpetersäure.

Wir hatten bereits an verschiedenen Objekten Gelegenheit gehabt, uns mit der Anlage und mit dem Bau des Korks bekannt zu machen; nichtsdestoweniger wollen wir noch einmal diesem Gegenstand unsere Aufmerksamkeit zuwenden, um einerseits die Lentizellen, andererseits den Bau der Korkzellwandung und deren Reaktionen kennenzulernen[1]).

Querschnitte durch grüne Zweige vom Holunder, Sambucus nigra, zeigen die um das weite, großzellige Mark im Kranz verteilten Leitbündel schon durch Interfaszikularkambium verbunden. Der Kambiumring hat auch bereits seine Tätigkeit begonnen und sowohl faszikular, als auch interfaszikular, sekundäres Holz und sekundären Bast erzeugt. Die primären Siebteile zeigen sich nach außen durch Sklerenchymfasern gestützt. Die Rinde ist 10—15 Zellen stark. Die vorspringenden Kanten des Stengels weisen eine starke hypodermale Kollenchymschicht auf, die in den Furchen auf 2—3 Zelllagen reduziert ist. Unter den Spaltöffnungen ist die Kollenchymschicht von dem bis an die Epidermis vordringenden, grünen Rindenparenchym durchbrochen. In Stengelteilen, die an ihrer Oberfläche grau werden, beginnt die Ausbildung der Korkschicht, und zwar durch tangentiale Teilung der äußersten, an die Epidermis unmittelbar grenzenden Kollenchymzellen. Die äußere der beiden so erzeugten Schwesterzellen teilt sich noch einmal, und dann ist es die mittlere dieser drei Zellen, die weiter als Korkkambiumzelle sich betätigt. Sie ist leicht zu erkennen, auch nachdem das Periderm mehrschichtig geworden (Fig. 147*ph*). Zu äußerst in jeder Reihe liegt der äußere,

[1]) Ältere Literatur bei A. de Bary, Vergl. Anatomie, Leipzig 1877, S. 560; F. v. Höhnel, Sitzber. K. Akad. Wiss. Wien, Math.-Nat. Kl., Bd. LXXVI, 1877.

zu innerst der innere Teil der ursprünglichen Kollenchymzelle (*cl*); die an den inneren Teil nach außen grenzende, flache Zelle (*ph*) ist die Korkkambium- oder Phellogenzelle. Zunächst erzeugt das Phellogen nur Korkzellen nach außen; alsbald beginnt es aber, wenn auch nur relativ spärlich, Zellen nach innen abzugeben, welche Chlorophyllkörner führen und zur Verstärkung der durch das Dickenwachstum des Stammes gedehnten Rinde beitragen. Diese vom Korkkambium aus erzeugte Rinde wird als Korkrinde oder Phelloderma bezeichnet. Alle aus dem Korkkambium erzeugten Produkte faßt man als Periderma (Periderm) zusammen. — Der Bildung einer fortlaufenden Korkschicht geht übrigens ein anderer Vorgang voraus, den wir auf günstig geführten Querschnitten leicht verfolgen können. Unter den Spaltöffnungen beginnen die primären Rindenzellen, welche die Atemhöhle umgeben, sich zu teilen; die Teilungen greifen seitlich auf die angrenzenden Kollenchymzellen über. Alsbald hat sich unter der Spaltöffnung eine meniskenförmige Schicht sich teilender Zellen (Fig. 148 *pl*) ausgebildet, eine Verjüngungsschicht, die nach außen farblose, sich abrundende Zellen (*l*), nach innen Korkrindenzellen (*pd*) erzeugt. Die äußeren Zellen werden als Füllzellen (*l*) bezeichnet. Sie bräunen sich, sind aber nicht verkorkt und üben, indem sie an Zahl zunehmen, alsbald einen solchen Druck auf die Epidermis aus, daß diese spaltenförmig aufreißt. So entsteht die Rindenpore oder Lentizelle[1]). Betrachtet man einen Zweig mit dem bloßen Auge,

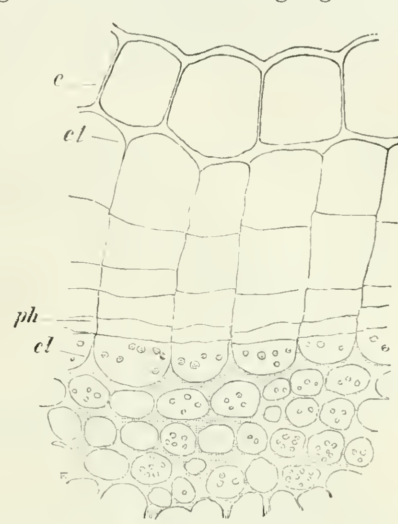


Fig. 147. Querschnitt durch die Oberfläche eines jungen Stengels von Sambucus nigra. *e* Epidermis; *ph* Phellogen; *cl* und *cl* der obere und der untere Teil der ursprünglichen Kollenchymzelle. Vergr. 240.

so erscheinen die Lentizellen als Furchen, die von zwei lippenförmigen Wülsten umgeben sind. Die braune Farbe der Füllzellen fällt besonders in die Augen. An jüngeren Stellen des Stengels erscheinen die Lentizellen als länglich runde, etwas vorgewölbte Flecken. Noch jüngere Stadien sind durch etwas hellere Farbe ausgezeichnet. An solchen Stellen muß der Schnitt geführt werden, um jüngste Entwicklungszustände zu liefern. Erst nach dem Aufreißen der Epidermis beginnen in dem angrenzenden Kollenchym die Teilungen, die zur Bildung des Periderms führen. — Die Füllzellen der Lentizellen sind voneinander getrennt; in dem Maße, als sie von außen der Zerstörung unterliegen, werden sie vom Kambium aus nachgebildet. Die Zwischenräume der Füllzellen sind mit Luft erfüllt; es stehen durch sie die Interzellularen der inneren Gewebe des Stammes mit der umgebenden

[1]) Vgl. hierzu auch G. Haberlandt, Physiol. Pflanzenanatomie, 5. Aufl., 1918, S. 444, wo weitere Literaturangaben zu finden sind.

Atmosphäre in Verbindung. Die Lentizellen ersetzen somit an älteren Pflanzenteilen, die sich mit Kork bedecken, die Spaltöffnungen. Für den Winter werden etwas dichtere, widerstandsfähigere Füllzellschichten gebildet. Eine eigentliche, aus enger aneinander schließenden Zellen gebildete Verschlußschicht ist bei Sambucus zur Winterszeit nicht vorhanden, während man sie bei vielen anderen Pflanzen trifft, sowie auch „Zwischenstreifen", die, der Verschlußschicht in ihrem Bau entsprechend, während der Vegetationszeit zwischen die Füllzellen zeitweise eingeschaltet werden. Die Zellen dieser Verschluß- und Zwischenschichten sind verkorkt; da aber radial verlaufende Interzellularräume zwischen ihnen bestehen, wird durch sie ein vollständiger Abschluß nicht bewirkt[1]). An älteren Stammteilen von Sambucus erhält das Periderm Längsrisse. Diese gehen durch die Lenti-

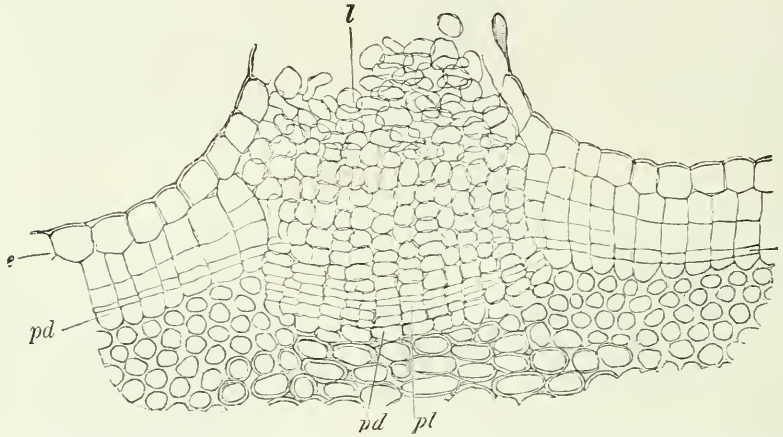


Fig. 148. Querschnitt durch eine Lentizelle von Sambucus nigra. *e* Epidermis; *ph* Phellogen des Periderms; *l* Füllzellen; *pl* Phellogen der Lentizelle; *pd* Phelloderma. Vergr. 90.

zellen, doch ohne sie zu beschädigen. Letztere bleiben auch an ganz alten Stammteilen erhalten, während die äußeren Peridermlagen zwischen ihnen abblättern.

Es empfiehlt sich, auch die Korkzellen vom Goldregen, Laburnum vulgare, zu untersuchen, weil sie durch auffallend starke Verdickung ihrer Wände ausgezeichnet sind. Querschnitte durch die Rinde älterer Stammteile zeigen das Periderm von nur einer Art solcher Korkzellen gebildet. Diese Korkzellen stehen in regelmäßig radialen Reihen. Die jüngsten sind farblos, die älteren gelb, die ältesten gelbbraun gefärbt. Die peripherisch gelegenen erscheinen tangential gedehnt, oft bis zum Schwinden des Lumens. Alle zeigen sich stark verdickt, vornehmlich an ihrer Außenseite. Man unterscheidet leicht an ihnen, auch ohne Hilfe von Reagentien, die zarten, sie trennenden Mittelschichten, ihre starke, deutlich lamellöse, sekundäre Verdickungsschicht und an deren Innenseite eine tertiäre Verdickungsschicht. Sonach besteht jede, je zwei Zellen trennende Wandung aus fünf verschiedenen Schichten: der Mittelschicht, welche die primäre Wand repräsentiert und verholzt ist; den beiden sekundären Verdickungsschichten, die allein verkorkt sind, und den beiden tertiären Ver-

[1]) H. Klebahn, Jen. Zeitschr. f. Naturwiss., Bd. XVII, 1884, S. 537.

dickungsschichten, die oft ihren Zellulosecharakter behalten und daher als Zelluloseschichten bezeichnet werden, in diesem Fall aber ein wenig verholzt sind. Mit frisch bereiteter, möglichst konz. Chlorophyllösung[1]), die man im Dunkeln länger auf die Schnitte einwirken läßt, färben sich die verkorkten Membranlamellen und die Kutikula intensiv grün, während die verholzten Membranen und die Zellulosehäute farblos bleiben. Diese Färbung weist auf das Vorhandensein fettartiger Stoffe in den verkorkten und kutinisierten Membranen hin. So speichern auch die verkorkten und kutinisierten Membranen ähnlich wie fettartige Körper, wenn auch minder kräftig, Farbstoff aus einer Lösung von Alkanna in 50-proz. Alkohol und auch Sudan III auf, das für diesen Zweck als Sudan-Glyzerin[2]) (s. S. 296 und Reg. IV) in Anwendung gekommen ist. Mit Chlorzinkjodlösung färben sich die Korkzellen gelb bis gelbbraun, die jüngeren dunkler als die älteren. Mit Kalilauge werden die Korkzellen gelb.

Die verkorkten Lamellen der Zellwand sowohl, als auch die Kutikula[3]) werden zersetzt, wenn man sie in konz. Kalilauge erwärmt. Läßt man den Objektträger, auf dem die Schnitte liegen, erkalten, so kann man beobachten, daß neben der erhalten gebliebenen Mittellamelle der Korkzellmenbranen trübe Klümpchen liegen, und daß sich eine Membran links und rechts von der Mittellamelle abgehoben hat. Die Klümpchen sind Kaliseifen der Säuren des sich im allgemeinen wie Fett verhaltenden Suberins. Setzt man nach Auswaschen mit Wasser dem Schnitt etwas Alkohol zu und erwärmt vorsichtig, so löst sich die Seife[4]). Erhitzt man in chlorsaurem Kali und Salpetersäure, so geben verkorkte Lamellen und Kutikula die Zerinsäure-Reaktion; sie verwandeln sich in Kügelchen, die bei 30—40° schmelzen und in kochendem Alkohol, Äther, Benzol, Chloroform oder verd. Kalilauge löslich sind. Bei gewöhnlicher Temperatur widerstehen verkorkte Wände und Kutikula energisch der Einwirkung der konz. Chromsäure. Auch konz. Schwefelsäure bleibt ohne sichtbare Wirkung auf sie. Chlorzinkjod wie Jodjodkalium färben sie gelb oder braun. Nach lang andauernder Einwirkung verdünnter Kalilauge lassen sich die Suberinlamellen durch Chlorzinkjodlösung violett färben, doch soll diese Färbung nicht auf dem Vorhandensein von Zellulose beruhen; sie wird vielmehr auf Phellonsäure zurückgeführt.

Korkartig sind die Kutine, welche die Kutikula, ferner die Suberine, welche die Suberinlamellen zusammensetzen, schließlich diejenigen Stoffe, die sich als „kutisierende Stoffe“ in pflanzlichen Zellwänden besonders den der Epidermen vorfinden[5]). Alle drei stehen sich in ihrer chemischen Natur sehr nahe, sind jedoch nicht identisch. So fehlt vor allem im Kutin die Phellonsäure, die im Suberin stets vorhanden ist; überhaupt ist die genaue chemische Zusammensetzung keiner der aus dem Suberin und dem Kutin isolierten Säuren erwiesen. Das Kutin widersteht

[1]) Vgl. C. Correns, Sitzber. K. Akad. Wiss. Wien, Bd. XCVII, 1888, S. 658, Anm. 1; auch A. Zimmermann, Bot. Mikrotechnik, 1892, S. 149, bzw. 2. Aufl., herausg. v. H. Schneider, Jena 1922, S. 269.

[2]) K. Kroemer, Bibliotheca Botanica, Heft 59, 1903, S. 9.

[3]) Vgl. besonders die beiden Arbeiten von C. van Wisselingh, Archives Néerlandaises, Bd. XXVI, 1893, S. 305, und Ebenda, Bd. XXVIII, 1895, S. 373.

[4]) A. Meyer, Erstes mikrosk. Prakt., 3. Aufl., 1915, S. 115.

[5]) Vgl. K. Kroemer, l. c. 1903, S. 2. Ferner Fr. Czapek, Biochemie der Pflanzen, 2. Aufl., I. Bd., 1913, S. 695, bzw. 3. Aufl. 1922, Ebenda, und A. Meyer, l. c. 1915, S. 43, 114.

im allgemeinen stärker der Kalilauge als das Suberin. Nach dem Erhitzen bis auf 300° in Glyzerin hinterläßt die verkorkte Lamelle im allgemeinen ein in Chromsäure sehr leicht lösliches Zersetzungsprodukt, während das Kutin ein solches nicht liefert[1]). Sie bestehen vornehmlich aus fettsäure-, wachs- und fettähnlichen Substanzen. Ob in den Korkmembranen Kohlenhydrate (Zellulose o. ä.) fehlen, wie verschiedentlich angegeben wurde[2]) ist nach den Ergebnissen neuerer Untersuchungen fraglich geworden[3]).

Géneau de Lamarlière[4]) nimmt auf Grund seiner, mit verschiedenen Farbstoffen (Alkanna, Sudan III, Safranin) erhaltenen Ergebnisse an, daß sich die Kutikula aus mehreren Schichten zusammensetzt. Er unterscheidet zwischen einer innersten, hauptsächlich Zellulose enthaltenden Partie und der nach außen folgenden eigentlichen Kutikula, die in ihrer Grundlage aus Pektinstoffen bestehen soll, denen als sekundäre Substanzen Kutin, Aldehyde, stickstoffhaltige Körper, Phosphate, Silikate, ja sogar in einzelnen Fällen Holzstoff eingelagert sein können. Eine äußerste, dünne Schicht, die Epikutikula, zeichnet sich durch ihre besonders starke Fähigkeit, Farbstoffe zu speichern, aus. Diese Zusammensetzung zeigen sowohl die untersuchten Wasserpflanzen, als auch Landpflanzen mit dünner Kutikula. Anders ist es bei den mit einer dicken Kutikula versehenen Landpflanzen. Zwar kann man auch hier eine durch intensive Färbung ausgezeichnete Epikutikula erkennen. Jedoch lassen sich in der kutinisierten Partie die Pektinstoffe nur schwer nachweisen, während die innerste, zellulosehaltige Lamelle nur eine ganz unbeträchtliche Dicke erreicht. Als besonders guter Kutinfarbstoff wird Orcanette (= Alkanna, nach Guignard), ferner Karbolfuchsin (Reg. IV) empfohlen. Persio-Essigsäure (vgl. Reg. IV) färbt die Kutikula gelb, während Bast- und Sklerenchymzellen eine rotviolette Färbung annehmen. In wässr., mit etwas Essigsäure versetzter Anilinblau-, ferner Methylblaulösung und Delafieldsschen Hämatoxylin werden die Zellulosemembranen intensiv gefärbt, während die kutinisierten Schichten farblos bleiben[5]).

Zur Färbung von Kork kann man ammoniakalische Lösungen[6]) von Gentianaviolett, Säuregrün (Mangin), Dahlia, Methylgrün und Pariserviolett anwenden, und zwar geben die beiden erstgenannten Farbstoffe die besten Ergebnisse. Die Lösungen stellt man sich her, indem man einer konz. alkohol. Farbstofflösung in Pausen geringe Mengen Ammoniak so lange zusetzt, bis die Flüssigkeit fast farblos erscheint. Diese ammoniakalischen Lösungen halten sich eine Zeitlang in gut verschlossenen Gefäßen. Es empfiehlt sich, die Schnitte, erst nachdem sie mit Javellescher Lauge gereinigt worden sind, für einige Min. in eine der Farblösungen zu bringen. Dann wäscht man sie in Wasser, das mit 5—10% Salz-, Schwefel- oder Salpetersäure angesäuert worden ist. Die Korkgewebe erscheinen dann je nach der Wahl des Farbstoffs violett oder grün. Die Schnitte können sofort in Glyzerin eingeschlossen werden. Würde man die Schnitte statt mit angesäuertem Wasser mit reinem auswaschen, so würden auch die Holzelemente gefärbt bleiben. Um Doppelfärbung zu erzielen, fügt man der ammoniakalischen Lösung, und zwar am besten von Säuregrün, im

[1]) C. van Wisselingh, Arch. Néerl., Bd. XXVIII, 1895, S. 404.
[2]) A. Meyer, l. c., 1915, S. 41.
[3]) Vgl. Fr. Czapek, l. c., 1913 bzw. 1922, S. 699. Dort die betr. Literatur.
[4]) Géneau de Lamarlière, Rev. gén. de Bot., Bd. XVIII, 1906, S. 289, 372.
[5]) O. Porsch, Österr. Bot. Zeitschr., LIII. Jahrg., 1903, S. 318.
[6]) A. Tison, Compt. rend. assoc. franç. pour l'avanc. de sc., Congrès de Boulogne-sur-mer, 1899, S. 454.

Augenblick der Benutzung etwas konz., wässr. Kongorotlösung hinzu, läßt die Schnitte ca. 5 Min. in dem Gemisch und wäscht sie in reinem Wasser bis zum deutlichen Hervortreten der Färbung im Kork- und Holzgewebe aus. Diese beiden Gewebearten sind dann grün gefärbt, während die parenchymatischen Elemente orangerot erscheinen. Die Färbung bleibt in neutralem Glyzerin lange erhalten. — Eine schöne Doppelfärbung erhält man auch mit einer alkohol. Lösung von Prodigiosin (vgl. Reg. IV) und Malachitgrün[1]). Das Malachitgrün färbt sehr stark, darf daher nur in geringen Mengen dem Prodigiosin zugesetzt werden. Man mischt die Tinktionsmittel am besten so, daß die Lösung eine blau- bis rotviolette Farbe erhält. Hierin verweilen die Schnitte ca. 10 Min. lang. Dann wäscht man sie mit Alkohol aus und überträgt sie in Wasser oder Glyzerin. Die verholzten Membranen erscheinen dann schön grün, die verkorkten karminrot. Eine Mischung von Chloranilin mit Prodigiosin verleiht den verholzten Partien der Schnitte eine gelbe, den verkorkten eine rote Färbung.

Mit Dimethylamidoazobenzol („Gelbglyzerin“ vgl. Reg. IV) in ganz schwacher salz- oder essigsaurer Lösung läßt sich das Holz rot färben, während Suberin und Kutin gelbe Farbe annehmen[2]).

Bei Anwendung des „Réactif genevois“[3]) (Chrysoidin und Kongorot s. Reg. IV) färben sich verholzte Membranen strohgelb, verkorkte Partien braungelb, die Kutikula goldgelb. — Sudan III färbt Kutin und Suberin intensiv rot. Verholzung und Verkorkung kann damit jedoch kaum auseinander gehalten werden.

Lagerheim[4]) verwendet Sudan III zu Doppelfärbungen, indem er einer Lösung von Sudan in 60-proz. Alkohol noch Brillantblau und Chloranilin zugibt. In der Lösung haben die Schnitte etwa 1 Std. zu bleiben. Dann werden sie in schwach mit Salzsäure angesäuertem Wasser ausgewaschen. Verkorkte Membranen zeigen sich dann rot, verholzte und Zellulosehäute blau gefärbt. Im übrigen sind zur Färbung des Korks von Fettfarbstoffen: Scharlach R., Fettblau, Gelb (Diamidoazobenzol), Buttergelb, Meyers Gelb (Dimethylparaphenylendiamin und α-Naphtol in 1-proz. Sodalösung) und Orlean, von Plasma- und Kernfarbstoffen: Neutralrot, essigsaures Anilin, Fuchsin und durch schweflige Säure entfärbtes Fuchsin (Schiffsches Reagens) empfohlen worden[5]).

Der Flaschenkork (von Quercus Suber, der Korkeiche) besteht aus fast kubischen, dünnwandigen, relativ großen Zellen, die allmählich in etwas stärker verdickte, flachere, die Grenze der Jahresproduktion bezeichnende, übergehen, auf die wieder die kubischen folgen. Zusatz von Kalilauge färbt den Schnitt gelb, vor allem die etwas dickwandigeren Zellen der Jahresgrenze. An diesen läßt sich feststellen, daß auch beim Flaschenkork, wie wir es bei Laburnum fanden, jede Wandung aus fünf Schichten besteht. Die tertiäre Verdickungsschicht gibt zunächst keine Zellulosereaktion; diese stellt sich vielmehr erst nach entsprechender Behandlung der Schnitte ein. Die Reaktionen auf Suberin gelingen hier noch schöner als bei Laburnum.

---

[1]) O. Rosenberg, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XV, 1898, S. 59, 60.

[2]) M. Plaut, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXIII, 1915, S. 137, 138.

[3]) Vgl. S. 232, ferner die Kritik von M. Plaut, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVII, 1910, S. 139, Anm.

[4]) G. Lagerheim, Svensk Farmazeut. Tidskr., Nr. 20, 1902.

[5]) Vgl. die Zusammenstellung von O. Richter, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXII, 1905, S. 388. Über die Einzelheiten vgl. diese Farbstoffe im Reg. IV.

Für gewöhnlich werden vom Phellogen nicht allein zentrifugal Korkzellen, sondern auch zentripetal Rindenzellen (Phelloderm) gebildet. Die Bildung des Phelloderms pflegt hinter der des Korkes sehr zurückzubleiben, in manchen Fällen aber kann sie auch sehr ausgiebig werden, so bei den Ribes-Arten. Stellen wir Querschnitte durch ältere Stammteile von Ribes rubrum, der Johannisbeere, her, so finden wir unter der dünnwandigen, braunen Korkschicht zunächst das Phellogen, dann eine dicke Lage chlorophyllhaltiger, flacher Rindenzellen. Auch diese sind in radialen Reihen angeordnet, die sich in jene des Korkes fortsetzen. In den inneren Teilen des Phelloderms verwischt sich infolge nachträglicher Dehnung die radiale Anordnung. Die innersten Phellodermzellen schließen an das Kollenchym der Rinde an. Alle aus dem Phellogen hervorgegangenen Bildungen werden, wie wir das schon bei Sambucus betonten, in der Bezeichnung Periderma[1]) zusammengefaßt; bei Ribes wird das Periderma somit von Kork (Phellem) und Korkrinde (Phelloderma) gebildet. — Von Interesse ist es auch, Querschnitte durch letztjährige Stammteile von Ribes rubrum, in denen die Korkbildung vor kurzem erst begann, auszuführen. Da kann man den ersten Anfang der Phellodermbildung sehen und zugleich feststellen, daß bei der genannten Pflanze das Phellogen ziemlich tief in der Rinde angelegt wird. Die außen befindlichen, durch die Korkschicht von der Saftzufuhr abgeschnittenen Gewebe sterben ab, bräunen sich und werden als sog. Borke alsbald abgeworfen.

Die meisten Holzgewächse pflegen zu wiederholten Malen, in immer tieferen Regionen der Rinde, Periderm zu bilden. Dieses schneidet dementsprechend immer neue Borkenmassen nach außen ab. Wir haben derartig eingeschaltetes Periderm bereits in der sekundären Rinde der Kiefer gesehen und wollen es nunmehr eingehender studieren. Zarte Querschnitte durch die sekundäre Rinde älterer, dickschuppiger, dunkelbraun gefärbter Stammteile der Kiefer zeigen uns in verschiedener Tiefe eingeschaltete Peridermstreifen, durch die große Massen abgestorbener, gebräunter, doch mit dem Stamm zunächst in Verbindung bleibender Gewebe nach außen abgegrenzt sind. Jeder Peridermstreifen besteht zu äußerst aus mehreren Schichten meist stark verdickter, poröser Zellen, deren Wände schön lamellös erscheinen; in der Mitte aus mehr oder weniger zahlreichen Schichten dünnwandiger Zellen: zu innerst meist wieder aus mehreren Schichten stärker verdickter Zellen. Die innerste Schicht der äußeren Lage ist oft einseitig nach außen verdickt. Die innerste, seltener die beiden innersten Schichten der mittleren Lage sind mit braunem Inhalt erfüllt. Die Zellen der inneren Lage führen, soweit vorhanden und dem zeitweilig innersten Peridermstreifen angehörend, Stärkekörner. Die mit rotbraunem Inhalt erfüllte, innerste Zellschicht der mittleren Lage entspricht dem außer Tätigkeit gesetzten Phellogen. Ihr, evtl. auch der Nachbarinnen, brauner Inhalt erinnert an den Inhalt der kristallführenden Schläuche im Bast derselben Kiefer, und in der Tat findet man auch hier zahlreiche kleine Kristalle aus Kalziumoxalat, die flach der inneren Wand dieser Zellen anliegen, freilich ganz deutlich erst auf tangentialen Längsschnitten zu erkennen sind. Nach Zusatz von Salzsäure treten sie da zunächst sehr scharf hervor, um sich später zu lösen. Die nach innen auf

[1]) Zusammenfass. Darstellung bei G. Mylius, Bibliotheca Botan., Heft 79, 1912.

diese Zellschicht folgenden, stärkeführenden Zellen sind Phelloderm und dementsprechend auch zentripetal vom Phellogen aus gebildet worden; sie können, wie schon erwähnt, unter Umständen auch fehlen. In der dickschuppigen, braunen Borke läßt sich eine Mehrzahl von Peridermblättern abzählen, die durch abgestorbenes, sekundäres Rindengewebe voneinander getrennt sind. Selbstverständlich sind außerhalb des innersten Peridermblattes weder in den Peridermblättern des Phelloderms, noch der sonstigen Rinde, Stärkekörner vorhanden. — Vereinzelt begegnet man in dieser Rinde auch ein- bis zweischichtigen Streifen aus stark verdickten Zellen, die beiderseits von dünnwandigen Zellen begrenzt sind. Diese dickwandigen Zellen stimmen mit den vorher in der Peripherie der Peridermstreifen gebildeten überein, und ebenso zeigen die dünnwandigen Zellen denselben Bau wie die zuvor geschilderten. Solche dickwandigen Streifen endigen an ihrem Rand in der dünnwandigen Mittelschicht der zuvor geschilderten Peridermblätter. Das Lostrennen der Borkenstücke erfolgt in den dünnwandigen Mittelschichten der Peridermblätter, bzw. an der Außenseite eines dickwandigen Streifens, wo ein solcher in ein Peridermblatt eingeschaltet ist. Behandelt man dünne Querschnitte der Borke mit konz. Chromsäure oder Kalilauge, so kann man feststellen, daß in den Peridermblättern nur die dünnwandigen Zellen der Mittellage verkorkt sind. Die von dieser Lage aus nach innen befindlichen Zellen hatten wir bereits als Phelloderma erkannt, die nach außen gelegenen, stark verdickten sind verholzt, aber kaum verkorkt und werden daher als Phelloid bezeichnet. Auf tangentialen Längsschnitten zeigen sie mehr oder weniger wellige Umrisse. — Etwas anders gestalten sich die Verhältnisse an oberen Stammteilen und dickeren Ästen, von denen die fuchsroten, pergamentartigen, dünnen Borkenschuppen abblättern. Hier findet man an Querschnitten durch die Rinde nur sehr wenig Borke, weil diese bald abgestoßen wird. Die abgelösten Schuppen sind entweder ihrer ganzen Ausdehnung nach papierdünn oder in der Mitte etwas angeschwollen. Untersucht man die ersteren oder den dünneren Saum der letzteren unter dem Mikroskop in Oberflächenansicht, so findet man, daß sie aus wellig umgrenzten, stark verdickten, fein getüpfelten Zellen bestehen. Es sind das dieselben Zellen, die wir zuvor schon in der Bezeichnung Phelloid zusammengefaßt hatten. Auf Querschnitten durch die Rinde stellt man fest, daß die Flügel der dickeren Schuppen und die dünnen Schuppen ihrer ganzen Ausdehnung nach 1—3 Zellagen stark sind, und daß beiderseits dünnwandige Korkzellen an sie anschließen, so wie wir dies in der zuerst untersuchten Rinde nur ausnahmsweise gefunden hatten. — Die Kiefer bildet keine Lentizellen. Bei Bäumen, die solche besitzen, ihre Borke aber in Schuppen abwerfen, werden die hierbei verlorengehenden Lentizellen durch neue ersetzt.

Der Kork ist auch das Vernarbungsgewebe der Pflanzen, indem Wundflächen durch ihn geschlossen werden. Unter der Wunde entsteht im lebenden Zellgewebe ein Phellogen, das alsbald die entblößte Stelle mit Kork abschließt. Es läßt sich dies leicht experimentell an der Kartoffelknolle feststellen. Wir schneiden von einer gesunden Knolle ein Stück ab und bewahren sie nun in einem mäßig feuchten Raum auf. Alsbald hat die Schnittfläche eine hellbraune Färbung angenommen. Nach einigen Wochen stellen wir fest, daß sie von einer dünnen Korkschicht bedeckt ist, deren Bildung bei feuchtem, warmem Wetter schon kurze Zeit nach der Verwundung eine Suberineinlagerung in die Wände

der unmittelbar unter der Wundstelle liegenden Zellen vorausgeht. — Die Korkschicht, die normalerweise die Kartoffelknolle deckt, besteht aus dünnwandigen, flachen Zellen, an denen man bei starker Vergrößerung braune Mittelschichten und farblose, zarte Sekundärschichten unterscheiden kann. Die Mittelschicht erscheint oft wellenförmig gebogen und daher scheinbar gestreift. Durch Erwärmen in Kalilauge werden die drei Schichten jeder Doppelwand sehr deutlich, weil die sekundäre Verdickungsschicht quillt; eine tertiäre Verdickungsschicht ist hier aber nicht nachzuweisen. Wird das Kochen in Kalilauge längere Zeit fortgesetzt, so verwandeln sich die sekundären Verdickungsschichten in eine körnige Masse. Eine ebensolche Korkschicht, wie die geschilderte, findet man auch auf Querschnitten durch die Wundstelle wieder. Außerhalb der Korkschicht liegen hier die gebräunten, abgestorbenen Zellen, die bei Herstellung der Wundflächen verletzt worden waren, bzw. außerhalb der sich bildenden Korkschicht zu liegen kamen, und deren Membranen z. T. Holzstoffreaktionen geben[1]). Diese Korkschicht entstand in einer unverletzten Zellage unter der Wund fläche, indem die betreffenden Zellen tangentiale Teilungen eingingen und zunächst ein Phellogen herstellten[2]).

Gegen die nachteiligen Wirkungen tieferer Wunden, die bis in den Holzkörper hineinreichen, schützt sich das Koniferenholz durch Harzbildung. Das Harz erfüllt den Innenraum der Holzelemente, durchtränkt deren Membranen und verhindert so das Eindringen von Luft und Wasser in das tiefer gelegene Holz. Bei den Laubbäumen spielt eine als Wundgummi bezeichnete Substanz eine ähnliche Rolle, wie wir dies bei der Kirsche (Prunus avium) besonders leicht feststellen können[3]). Bringen wir flache Wunden, die bis ins Holz reichen, durch tangentiale Schnitte an Zweigen des Kirschbaums an, so sehen wir schon nach 8—10 Tagen die Farbe des Holzes an der Wundstelle mehr ins Rötliche übergehen. Untersuchen wir hierauf den betreffenden Zweig auf Querschnitten, so finden wir die Markstrahlzellen an der Wundstelle von zahlreichen, verschieden großen, braunen Körnern erfüllt, die z. T. frei im Plasma liegen, z. T. Stärkekörner umgeben und stellenweise deutlich auf deren Kosten entstehen. — Eine andere ähnliche Wunde, die wir erst nach 4—5 Wochen untersuchen, zeigt das Holz viel stärker verfärbt, die braunen Massen in den Markstrahlzellen noch zahlreicher vertreten, außerdem aber in Gefäßen und Holzzellen an der Innenfläche der Membranen tropfenförmige Ballen von mehr oder weniger gelber bis brauner Farbe. Diese Substanzmassen in Markstrahlen, Holzzellen und Gefäßen sind Wundgummi, das in den lebenden Elementen des Holzkörpers vornehmlich auf Kosten der Stärke erzeugt und in die leblosen Elemente ausgesondert wird. Dieses Wundgummi soll eine besondere Gummiart sein; es zeigt charakteristische Reaktionen. Es ist löslich in kochender Salpetersäure und nach längerer, etwa halbtägiger Einwirkung auch in Javellescher Lauge; in Wasser quillt es hingegen nicht einmal auf. Mit verholzten Membranen teilt es die Eigenschaft, sich durch Phlorogluzin und Salzsäure, Orzin und Salzsäure

[1]) Näheres über Verholzung bei Verwundungen findet sich bei H. Devaux, Actes de la Soc. Linn. de Bordeaux, 6. sér., T. VIII, 1903, S. XCVIII.

[2]) Näheres bei L. Olufsen, Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. XV, 1903, S. 269; O. Appel, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXIV, 1906, S. 118; B. Kabus, Cohns Beitr. z. Biol. d. Pfl., Bd. XI, 1902, S. 3.

[3]) P. Sorauer, Handbuch der Pflanzenkrankheiten, 4. Aufl., Bd. I, 1921, S. 788 ff. Dort die ältere Literatur.

violett, durch schwefelsaures Anilin hochgelb zu färben, was auf das Vorhandensein ebensolcher Stoffe im Wundgummi hinweist, wie sie im Holzgewebe vertreten sind[1]). In Alkohol, Äther, Schwefelsäure, Kalilauge ist das Wundgummi unlöslich; werden die Schnitte aber etwa eine Viertelstunde lang mit verd. Salzsäure und chlorsaurem Kali digeriert, so erfolgt eine Veränderung des Wundgummis, die dessen Löslichkeit in Weingeist zur Folge hat. Längeres Digerieren mit Salzsäure und chlorsaurem Kali bringt das Wundgummi zum Verschwinden[2]). Mit Safranin, Methylgrün bzw. Jodgrün, besonders aber mit Fuchsin läßt sich das Wundgummi rasch und intensiv färben. Die gebräunten Wundgummi-Massen reagieren zugleich deutlich auf Gerbstoff. — In den mit Wundgummi sich füllenden Gefäßen tritt häufig auch Thyllenbildung (vgl. S. 285) ein, so daß solche Gefäße dann z. T. von Wundgummi, z. T. von Thyllen erfüllt erscheinen.

Bei der Untersuchung gesunder, unversehrter, älterer Zweige, die bereits das an seiner rotbraunen Färbung kenntliche Kernholz gebildet haben, stellen wir auf Querschnitten leicht fest, daß auch dessen Gefäße braunes Wundgummi enthalten. Querschnitte, die sukzessiv vom Kambium gegen die Stammitte fortschreiten, zeigen die Gefäße des Frühholzes etwa schon des fünftjüngsten Jahresrings vollständig mit Wundgummi erfüllt; die Füllung der Gefäße schreitet dann langsam nach dem Spätholz fort; es zeigt der neunte oder zehnte, bzw. erst ein wesentlich älterer Jahresring in sämtlichen Gefäßen Wundgummi. Dieses ist auch im Lumen der übrigen Elemente des Holzes vertreten. Das Holz ist an solchen Stellen bereits dunkel rotbraun gefärbt. Die Markstrahlzellen zeigen sich dort mit dunkelbraunen Inhaltsmassen erfüllt. Läßt man Jodlösung auf die Präparate einwirken, so erkennt man leicht, daß der lebende Inhalt und die Stärkeeinschlüsse der Markstrahlen bis an die Grenze des Kernholzes reichen. Dieses besteht nur noch aus toten Elementen, und deren Abschluß geschieht durch Wundgummi. Thyllenbildung spielt dabei in diesem Fall keine Rolle, während ihr unter Umständen, wie bei Robinia (s. S. 285), die Aufgabe des Abschlusses auch allein zufallen kann. Wie das gebräunte Wundgummi und der gebräunte Zellinhalt, so geben auch die ebenso gefärbten Zellwände im Kernholz deutliche Gerbstoffreaktion. Radiale Längsschnitte durch das Kernholz zeigen das Wundgummi z. T. in zusammenhängenden, z. T. in getrennten, tropfenförmigen Massen innerhalb der Gefäße; ebenso ist Wundgummi leicht in den übrigen Elementen der Holzstränge zu erkennen; die Füllung der Markstrahlzellen mit körnigen, braunen Substanzen fällt sogleich in die Augen. Sie ist sehr ausgiebig in den äußeren Teilen des Kernholzes und nimmt von da aus nach innen ab. Einzelne stärkeführende Markstrahlzellen bleiben hier und dort zwischen den mit braunem Inhalt erfüllten oft längere Zeit erhalten.

Bekanntlich unterliegen die Kirschbäume leicht einer krankhaften Gummibildung: Gummosis, Gummikrankheit oder Gummifluß[3]), wobei aus Rissen der Borke beträchtliche Gummimassen nach außen treten. Werden Querschnitte durch solche kranke Stellen ausgeführt, so sieht man den Holzkörper rötlich bis bräunlich gefärbt und eine größere oder geringere Anzahl der Gefäße und Holzzellen mit gelbem bis braunem Wundgummi erfüllt. Die

[1]) Vgl. H. Molisch, Sitzber. K. Akad. Wiss. Wien, Math.-Nat. Kl., Bd. XCVII, 1888, S. 290, und in diesem Praktikum die Holzstoffreaktionen, S. 272 ff.

[2]) A. B. Frank, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. II, 1884, S. 324.

[3]) A. B. Frank, Die Krankheiten der Pflanzen, 1880, S. 85 ff., dort die ältere Literatur; ferner E. Küster, Pathol. Pflanzenanatomie, 2. Aufl., Jena 1916, S. 118.

Erscheinung ist die nämliche, wie wir sie an künstlich angebrachten Wunden schon festgestellt haben, nur daß sie hier meist größeren Umfang annimmt. — Die Hauptmasse des aus dem Stamm herausquellenden Gummis stammt aus der sekundären Rinde, in der, wie wir an entsprechenden Querschnitten ebenfalls feststellen können, nicht nur die dünnwandigen Elemente, sondern auch die dickwandigen Bastfasern aufgelöst werden und zu Gummi zerfließen. Nur das Korkgewebe des Periderms bleibt verschont. — An Orten, an denen die Gummosis das Kambium erreicht hat, hört dessen weitere Tätigkeit auf. Von den benachbarten Teilen aus wird nun eine Überwallung der untätigen Stelle versucht, wodurch der Zweig einen unregelmäßigen Querschnitt erhält. Indem die Gummosis immer weiter um sich greift, pflegen die erkrankten Zweige schließlich abzusterben. — Behandelt man die Querschnitte, die Gummosis zeigen, mit schwefelsaurem Anilin und Schwefelsäure, mit Orzin oder Phlorogluzin und Salzsäure, so sieht man die Gummimassen sich z. T. hochgelb bzw. violett färben. Genauere Betrachtung lehrt, daß sich diese Färbung nur in der Nähe der sich zersetzenden Zellen einstellt, und zwar insoweit nur, als jene Zellen verholzt waren. So tritt sie im Bast nur um so verwandelte Bastfasern auf. Es beruht diese Färbung somit jedenfalls ebenso wie jene des Wundgummis auf dem Vorhandensein bestimmter Holzsubstanzen. Die aus der Zersetzung der gesamten Stelle hervorgehenden Gummimassen, eigentliches Kirschgummi, unterscheiden sich ganz wesentlich vom Wundgummi; sie verquellen vor allem in Wasser und wären somit auch als Abschlußmasse für außer Tätigkeit gesetzte Elemente durchaus ungeeignet. Als Hauptbestandteile des Kirschgummis können das Arabin und das Cerasin gelten.

Eine besonders starke Neigung zum krankhaften Gummifluß zeigen Bäume, besonders Kirschbäume, mit schnellem Wachstum. In diesen lockert sich unter dem Einfluß des als Schwellkörper wirkenden Marks das Holz: zwischen die prosenchymatischen Elemente werden dann verschieden große Gruppen von weniger widerstandsfähigen Parenchymzellen eingeschaltet. Diese Lockerungserscheinungen sind von Quellungsvorgängen der Membranen begleitet, die bei den verschiedensten Baumarten vorkommen, sich aber bei den Prunoideen stellenweise bis zur Auflösung der Gewebe und zum Auftreten des Gummiflusses steigern[1]). Der Vorgang spielt sich dabei, wenigstens bei Prunus-, auch bei Citrus-Arten, so ab, daß zuerst die sekundären Verdickungsschichten der Zellwände und meist zugleich auch die primären, dann die tertiären in Gummosis verfallen. Schließlich wird auch der Zellinhalt zu einem Bestandteil der Gummimasse[2]). Grüss[3]) und Sorauer[4]) stehen auf dem Standpunkt, daß die Gummosis zunächst ein normaler Prozeß des Stoffwechsels ist[5]), der aber durch verschiedene Ursachen zu einem krankhaften ausarten kann.

[1]) P. Sorauer, Landwirtsch. Jahrb., Bd. XLI, 1911, S. 131.

[2]) O. Butler, Ann. of Bot., Bd. XXV, 1911, S. 108.

[3]) J. Grüss, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVII, 1910, S. 393, auch Wochenschr. f. Brauerei, 1898, Nr. 20, und Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XVI, 1898, S. 17.

[4]) P. Sorauer, Landw. Jahrbücher, Bd. XXXIX, 1910, S. 259. S. a. Grüss und Sorauer, Notizbl. d. Kgl. Bot. Gartens u. Museums zu Dahlem, Nr. 47, 1910, und K. Mikosch, Sitzber. K. Akad. Wiss. Wien., Math.-Nat. Kl., Bd. CXV, 1906.

[5]) Gummimasse läßt sich nämlich selbst in den Geweben des Vegetationskegels unverletzter Sprosse feststellen. Vgl. dazu P. Sorauer, Landwirtsch. Jahrb., Bd. XLVI, 1914, S. 253 und Derselbe, Zeitschr. f. Pflanzenkrankh., Bd. XXV, 1915, S. 71 ff., 134 ff.

XV. Abschnitt.

Bau der Laubblätter. Bau der Blumenblätter.

Ölbehälter. Zystolithen. Enzymschläuche. Leitbündelendigungen. Leitungsbahnen für Kohlenhydrate im Blatt. Makroskopischer Nachweis von Stärke und Eiweiß im Blatt. Epitheme. Blattfall.

Untersuchungsmaterial.

Frische Blätter von Ruta graveolens, bzw. von Callistemon coccineus, oder von Helleborus niger oder einer anderen Helleborus-Art, oder von Syringa vulgaris. Blüten von Verbascum nigrum und von Papaver Rhoeas, frisch oder in Alkohol.

Blätter von Fagus silvatica. Blätter von Ficus elastica. Blätter von Raphanus sativus. Blätter von Impatiens parviflora. Blätter von Cucurbita Pepo. Blätter von Tropaeolum majus. Blätter von Saxifraga Aïzoon. Beblätterte Zweige von Aesculus Hippocastanum im Herbst. Ebenso von Gymnocladus canadensis, oder von Ailanthus glandulosa, oder von Fraxinus excelsior, oder von Juglans regia. Sämtlich womöglich frisch.

Wir wollen es nunmehr versuchen, uns an einer Reihe von Beispielen mit dem Bau der Blätter bekannt zu machen. Wir wenden uns zunächst an die Laubblätter, und zwar an Formen, die eine möglichst weitgehende Differenzierung des inneren Baues aufzuweisen haben. Das erste Beispiel soll die Gartenraute, Ruta graveolens[1]), sein, deren Blätter sich meist auch während des Winters im Freien frisch erhalten. Die Blätter dieser Pflanze sind doppelt gefiedert, die Blättchen verkehrt eiförmig. Gegen das Licht gehalten, zeigen diese Blättchen helle Punkte; es sind das mit ätherischem Öl erfüllte Sekretbehälter, „innere Drüsen“ im Gewebe des Blattes. Wir betrachten zunächst Oberflächenansichten der Epidermis und stellen fest, daß die Oberseite (Fig. 149 *A*) überhaupt keine oder meist nur wenige Spaltöffnungen führt; dagegen sind diese zahlreich an der Unterseite (*B*) vertreten. Längliche, mit Luft erfüllte Grübchen führen nach der Spalte. Über den Sekretbehältern liegen, wie man an der Epidermis der Ober- wie der Unterseite feststellen kann, meist vier Zellen, die sog. Deckzellen (*A*, *sc*). Diese vier Zellen nehmen die Mitte einer flachen Einsenkung ein. An dickeren Stellen des Schnittes, wo der Sekretbehälter durch das Messer nicht geöffnet wurde, sieht man in ihm einen stark lichtbrechenden, gelben Tropfen. Bei tieferer Einstellung kann man feststellen, daß auf die Epidermis der Oberseite ein grünes Gewebe folgt, dessen Zellen im optischen Durchschnitt rund erscheinen (*A*, *p*). Diese Zellen berühren sich kaum mit ihren Seiten, und die sie umgebenden Interzellularräume

[1]) Über die Blattanatomie der Rutaceen vgl. im übrigen HILMAR SCHULTZE, Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. XII, 1902, S. 55 ff.

sind mit Luft erfüllt. An die Epidermis der Unterseite setzen ebenfalls grüne, im optischen Durchschnitt runde Zellen (*B*, *p*) an, doch in viel geringerer Anzahl. Sie lassen besonders weite mit Luft erfüllte Räume zwischen sich und bilden, besonders unter den Spaltöffnungen, weite Atemhöhlen (*B*). — Nach dieser Orientierung schreiten wir zu den Querschnitten; wir führen sie senkrecht zur Längsachse des Blättchens nach der uns bereits bekannten Methode (S. 196) aus, indem wir das Blättchen, um es zu schneiden, zwischen Holundermark einspannen. Der Querschnitt führt uns zwischen den beiden Oberhäuten das Blattgewebe oder Mesophyll vor. Von oben nach unten fortschrei-

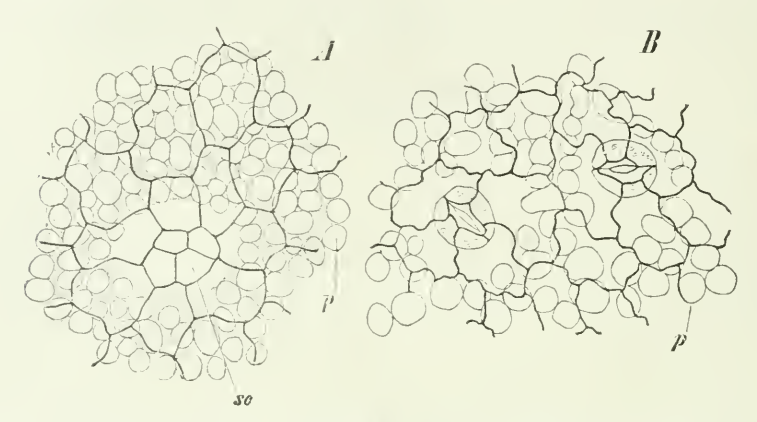


Fig. 149. Epidermis und das ihr angrenzende Gewebe des Blattes von Ruta graveolens. *A* Epidermis der Oberseite, *sc* Epidermiszellen über einem Sekretbehälter, *p* Palisadenparenchym; *B* Epidermis der Unterseite, *p* palisadenartig ausgebildetes Schwammparenchym. Bei *A* die lufterfüllten Interzellularräume schattiert, bei *B* hell gelassen. Vergr. 240.

tend sehen wir zunächst die Epidermis der Oberseite (Fig. 150 *ep'*), dann eine doppelte Schicht paralleler, zur Oberfläche des Blattes senkrechter, langgestreckter, chlorophyllhaltiger Zellen, die wir als Palisadenzellen (*pl'*) bezeichnen. Schon am Flächenschnitt hatten wir festgestellt, daß diese Zellen seitlich voneinander mehr oder weniger vollständig getrennt sind; dagegen finden wir jetzt, daß die beiden aufeinander folgenden Schichten fest mit ihren Enden zusammenschließen. Die Elemente der zweiten Palisadenschicht (*pl''*) sind etwas weniger zahlreich als jene der ersten, und oft vereinigen sich zwei äußere Palisadenzellen mit einer inneren solchen Zelle. Auf diese beiden Palisadenschichten folgt ein lockeres Gewebe, das bis an die Epidermis der Unterseite reicht und ein Netz von weiten Maschen bildet; wir bezeichnen dieses Gewebe als Schwammparenchym; es führt etwas weniger Chlorophyllkörner wie das Palisadengewebe. Die Zellen der oberen Schicht des Schwammparenchyms (*sp*) sind mit den inneren Palisadenzellen fest verbunden, und zwar setzen sie meist an eine größere Anzahl von Palisadenzellen an. Keine der Palisadenzellen bleibt an ihrem unteren Ende frei; wo dies der Fall zu sein scheint, liegt der Anschluß nicht in der Ebene des Bildes. So kommen auch im Netz des Schwammparenchyms keine freien En-

digungen vor; alle Zellen hängen mit ihren Enden zusammen. Die unterste Schicht des Schwammparenchyms (*pl* IV) ist gegen die Epidermis der Unterseite gestreckt und trifft sie mehr oder weniger senk-

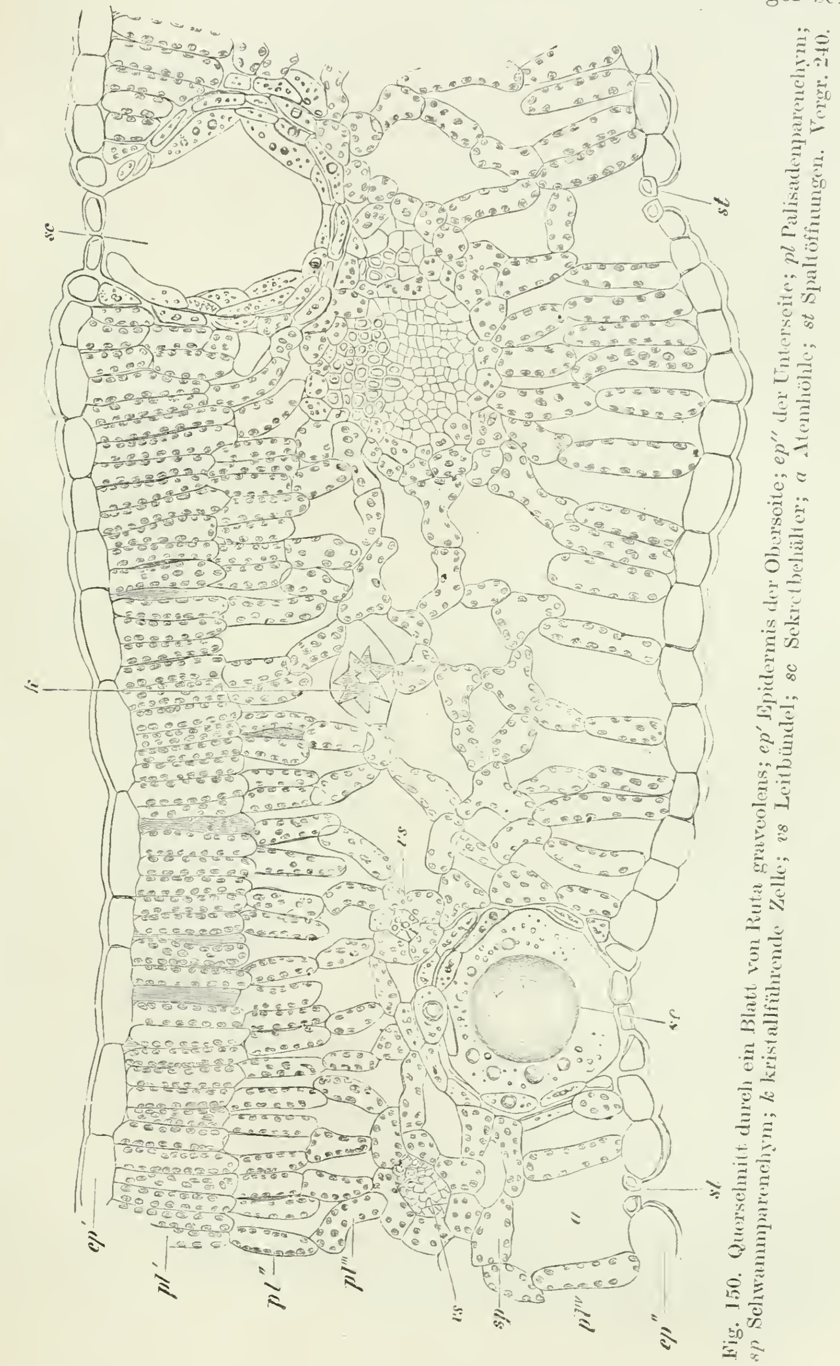


Fig. 150. Querschnitt durch ein Blatt von Ruta graveolens; *ep'* Epidermis der Oberseite; *ep''* der Unterseite; *pl* Palisadenparenchym; *sp* Schwammparenchym; *k* kristallführende Zelle; *vs* Leitbündel; *sc* Sekretbehälter; *a* Atemhöhle; *st* Spaltöffnungen. Vergr. 240.

recht; dadurch kommt hier eine Art Mittelbildung zwischen Schwammparenchym und Palisadenparenchym zustande. Unter den Spaltöffnungen (*st*) sind die Atemhöhlen (*a*) zu sehen. Einzelne Zellen im Schwammparenchym führen eine Kristalldruse aus Kalziumoxalat (*k*). Sie sind chlorophyllos, tonnenförmig angeschwollen und erscheinen wie suspendiert zwischen den grünen Nachbarinnen. An den Kanten des Blättchens sind die Außenseiten der Epidermiszellen stark verdickt. Die Palisadenschicht wird dort einfach und geht dann an der Unterseite des Blattes in die gestreckte Schwammparenchymschicht (*pl* IV) über. Die Leitbündel liegen im Schwammparenchym; das größte, im Mittelnerv des Blättchens, reicht hingegen oben fast bis zur inneren Palisadenschicht, unten bis zur untersten, gestreckten Schwammparenchymschicht. Im Leitbündel selbst fallen uns besonders die dunkleren Gefäßtracheïden und der hellere Siebteil auf. Die radiale Anordnung der inneren Elemente läßt auf eine zeitweilige Tätigkeit des Kambiums schließen. Um das Leitbündel ist eine Parenchymscheide vorhanden, deren Elemente bereits Chlorophyllkörner führen. An diese Scheide setzen die Schwammparenchymzellen im Umkreis an. Ähnliche Verhältnisse weisen die kleineren Leitbündel auf, beispielsweise das im Bilde dargestellte. Noch kleinere Leitbündel (*vs*) sind auf wenige Gefäßtracheïden und Siebelemente reduziert. Sie alle bleiben bis zuletzt von der Scheide gestreckter Parenchymzellen umschlossen. Die Sekretbehälter (*sc*) stoßen an die Epidermis der Ober- bzw. Unterseite. Sie sind kreisförmig umschrieben, von einer Schicht dünnwandiger, mehr oder weniger zerstörter Zellen ausgekleidet, auf die eine Schicht flacher Zellen mit körnigem Inhalt und ziemlich starken, weißen Wänden folgt. An diese Zellen setzt das umgebende, chlorophyllhaltige Mesophyll an. Die Epidermiszellen, die über dem Sekretbehälter liegen, sind niedriger als die angrenzenden. Das flüchtige Öl läßt sich leicht mit Alkohol entfernen. — Oberflächenschnitte vom Grunde des gemeinsamen Blattstiels zeigen, daß dort die Epidermiszellen gestreckt sind und Ober- wie Unterseite Spaltöffnungen tragen. Auch Ölbehälter sind dort vorhanden. Unter der Epidermis liegt eine Schicht gedehnter, kollenchymartiger Zellen, dann folgt erst das chlorophyllhaltige Gewebe. Im Querschnitt sieht man, daß die Epidermis des Blattstiels an ihrer Außenseite stärker verdickt ist; ihr folgt die einfache Schicht verdickter Kollenchymzellen, die nur unter den Spaltöffnungen fehlt. Zwei bis drei Schichten palisadenartig gestreckter, grüner Zellen sind im ganzen Umkreis ziemlich gleich ausgebildet, doch an der Unterseite etwas weniger dicht gedrängt. Dann schließen nach der Mitte zu runde, zunächst grüne, dann farblose Zellen an, die allmählich größer werden. In diesem inneren Zylinder aus farblosen Zellen verlaufen die Leitbündel, das stärkste in der Mediane, der Unterseite genähert, die anderen im Umkreis, beiderseits an Größe abnehmend, mit nach der Mitte des Blattstiels gekehrten Vasalteilen. Die größeren dieser Leitbündel sind nach außen mit Strängen von Sklerenchymfasern versehen. Augenscheinlich hat in diesen Leitbündeln auch die Tätigkeit des Kambiums länger angehalten und nach innen sekundäres Holz, nach außen sekundären, dünnwandigen Bast geliefert.

Schon, wenn wir die Oberfläche des Blattes von Ruta graveolens mit einer starken Lupe betrachten, fallen uns die Einsenkungen auf, in denen die Deckzellen der Ölbehälter liegen. Biegen wir nun bei gleichzeitiger Betrachtung mit der Lupe das Blättchen etwa halbkreisförmig, so füllen sich auf der konvexen Seite zahlreiche Grübchen mit Sekrettröpfchen. Diese treten, wie die Untersuchung eines von einem solchen Blättchen hergestellten Oberflächenschnittes lehrt, durch je eine bei der Biegung zwischen den Deckzellen geöffnete Spalte heraus, die ihrerseits durch Auflösen der zwischen den Deckzellen befindlichen, anscheinend vorher stark gequollenen Mittellamelle entsteht. Bei der Entleerung des Sekrets wirken die Drüsenwandzellen, die durch den in ihnen herrschenden starken Turgor auf den Drüseninhalt einen Druck ausüben, aktiv mit. Über die intensive Turgeszenz der Drüsenwandzellen kann man sich leicht orientieren, wenn man einen nicht zu dünnen Schnitt, in dem eine Drüse getroffen wurde, in Wasser beobachtet. Da zeigt es sich, daß die unverletzten Wandzellen ihre Innenwände ganz außerordentlich stark in den Drüsenraum hineingewölbt haben. Dieser Druck allein genügt jedoch noch nicht, um eine Entleerung herbeizuführen. Durch ein, wenn auch nur geringes Biegen der Blättchen, wie es bei kräftigem Schütteln eintreten kann, muß eine Drucksteigerung bewirkt werden, wobei die Zugspannung, der die Deckzellen auf der Konvexseite des Blattes unterworfen sind, die Entstehung der Ausführungsspalte begünstigt. Die flache Gestalt der Deckzellen, ferner die, wie der Querschnitt zeigt, geringere Dicke der Außenwände, bzw. ihrer Kutikularschichten, die hier übrigens nicht wie die der benachbarten Epidermiszellen kutinisiert, sondern pektin-, vielleicht auch kallosehaltig sind, kommen ebenfalls als den Entleerungsvorgang erleichternde Momente in Betracht. Das Vorhandensein von Pektinstoffen läßt sich besonders durch die Wirkung einer sehr schwachen Safraninlösung erkennen, die in Oberflächenschnitten die Deckzellen als lichte, blaßgelbe Inseln gegen die kirschrote übrige Epidermis hervortreten läßt. Auf die Gegenwart von kalloseähnlich reagierenden Stoffen, die neben Pektinstoffen in den Außen- und Spaltwänden der Deckzellen sich befinden, kann man mit Korallin-Soda, ferner mit wässr. Anilinblaulösung, der einige Tropfen Essigsäure zugesetzt waren, prüfen. Die in Korallin-Soda gefärbten, dann mit Sodalösung ausgewaschenen Oberflächenschnitte, zeigen die Spaltwände schön rosenrot gefärbt, während die Seitenwände der Epidermiszellen farblos geblieben sind. In der Anilinblaulösung haben an ebensolchen Schnitten zunächst alle Außenwände gleichmäßig blaue Färbung angenommen, ebenso die Spaltwände bis auf einen schmalen Membranstreifen, mit dem die Spaltwände an die auf die benachbarten Epidermiszellen treffenden Wände ansetzen. Werden die Schnitte dann in verd. Glyzerin übertragen und nach 24 Std. untersucht, so zeigen sich die gewöhnlichen Epidermiszellen ganz entfärbt, während die Deckzellen schön blau hervortreten[1]).

Ein typisch dorsiventral gebautes Blatt stellt das von Ruta graveolens nicht dar. Es neigt vielmehr schon zum isolateralen Bau, wie er sich besonders instruktiv bei solchen Gewächsen ausgebildet findet, die ihre Blätter mit den Kanten gegen die Lichtquelle richten, so daß beide Blattflächen Licht von gleicher Stärke erhalten. Solche Blätter besitzen auf beiden Seiten Spaltöffnungen; nach beiden Seiten

[1]) G. Haberlandt, Sitzber. K. Akad. Wiss. Wien, Math.-Nat. Kl., Bd. CVII, 1898, S. 1221, u. Derselbe, Physiol. Pflanzenanatomie, 5. Aufl., 1918, S. 482.

ist auch bei ihnen das Palisadenparenchym entwickelt. Die aus Australien stammende Myrtacee, Callistemon coccineus oder eine andere Art von Callistemon, die in Gärtnereien vielfach gezogen werden, dürfte geeignetes Untersuchungsmaterial liefern. Gute Beispiele für dorsiventral gebaute Blätter würden jedoch Syringa vulgaris oder Helleborus-Arten, z. B. der als Christrose bekannte und in den Gärten verbreitete Helleborus niger liefern. Da zeigt das zwischen den Epidermiszellen eingeschlossene Mesophyll ausschließlich Palisadenparenchymzellen nach der Oberseite des Blattes zu, während nach der unteren nur Schwammparenchym ausgebildet ist.

Ähnliche Verhältnisse treten uns auch bei den Blättern der Rotbuche, Fagus silvatica, entgegen und zwar bei solchen, die einem mäßig

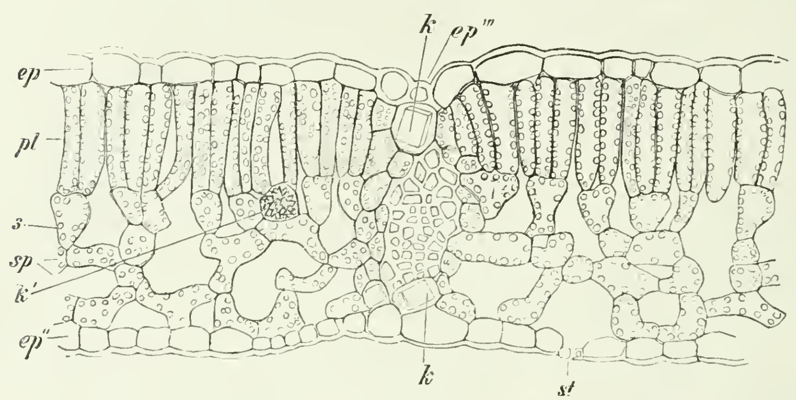


Fig. 151. Querschnitt durch ein Blatt von Fagus silvatica. *ep* Epidermis, *pl* Palisadenparenchym, *s* Sammelzellen, *sp* Schwammparenchym, *k* kristallführende Zellen, in *k'* eine Kristalldruse, *st* Spaltöffnungsapparat. Vergr. 360.

beleuchteten Standort entstammen. Ein zarter Schnitt ist hier, der geringen Dicke der Blätter wegen, nicht so leicht zu erhalten. Man wird gut tun, recht schmale Streifen des Blattes zwischen die beiden Längshälften eines Holundermarkstückchens einzuklemmen, oder, besser noch, mehrere gleichschmale Blattstreifen aufeinandergelegt, gemeinsam zu schneiden, bzw. auch ein Handmikrotom zu Hilfe zu nehmen. Auf die spaltöffnungsfreie Epidermis der Oberseite (Fig. 151 *ep*) folgt eine Schicht langgestreckter Palisadenzellen (*pl*). Diese Palisadenzellen sind mehr oder weniger vollständig durch Interzellularräume seitlich voneinander getrennt. Sie neigen nach unten büschelweise zusammen, und an jeden Büschel setzen ein bis mehrere trichterförmige „Sammelzellen" (*s*) an, deren eigentümliche Gestalt als eine Anpassungserscheinung an die Durchlüftung des Blattinnern gedeutet wurde [1]). Diese Zellen zeigen sich mit den der Blattfläche parallel gestreckten Schwammparenchymzellen (*sp*) zu einem lockeren Netz verbunden, das bis an die spaltöffnungführende Epidermis der Unterseite (*ep''*) reicht. Einzelne chlorophyllfreie Zellen mit einer Kristalldruse (*k'*) sind den Schwammparenchymzellen eingeschaltet. Der Hauptnerv und die Seitennerven erster Ordnung springen aus der unteren Blattfläche als Blattrippen stark hervor.

[1]) Nach S. Rywosch, Zeitschr. f. Bot., IV. Jahrg., 1912, S. 265.

Der vorspringende Teil ist etwa noch einmal so dick wie die übrigen Teile des Blattes. Das Leitbündel ragt in die vorspringende Rippe hinein. Diese wird von gestreckten Epidermiszellen bedeckt, auf welche gestreckte, kollenchymatische Zellen folgen. An diese schließen Reihen kurzer Zellen an, die je einen einfachen Kristall führen, und dann die mehrschichtige Lage aus Sklerenchymfasern, die das ganze Leitbündel umscheidet. An der Oberseite ist über dem Leitbündel die Palisadenschicht an einer schmalen Stelle unterbrochen und durch Kollenchym ersetzt, auf das ein schmaler Streifen gestreckter Epidermiszellen (*ep''*) folgt. Eine Schicht chlorophyllhaltiger Zellen umkleidet die Sklerenchymscheide, und an diese schließen die Schwammparenchymzellen an.

Die Rippen stellen das mechanische System der Blätter dar, die biegungsfest gebaut sein müssen. Die Träger sind gleichmäßig in der Blattfläche orientiert, die Tragebene steht senkrecht zu dieser Fläche. Die Oberfläche des Blattes ist hauptsächlich auf Zug, die Unterseite auf Druck gespannt. Die Träger sind im vorliegenden Fall I-förmig gestaltet, das Leitbündel bildet die Füllung des Trägers. Die Leistungsfähigkeit der auf Druck gespannten, unteren Gurtung wird durch ihr möglichst tiefes Hinausdrücken aus der unteren Blattfläche in die vorspringenden Blattrippen erhöht. Die Blattlamina ist durch die Nerven straff angespannt und erhält durch diese auch die nötige Festigkeit, die sie vor dem Zerreißen schützt[1]). Kleinere Leitbündel, wie das in dem nebenstehenden Bilde, werden nur an der Ober- und Unterseite von einigen Sklerenchymfasern gestützt. Die letzten Bündelauszweigungen sind ohne sklerenchymatische Belege direkt im ganzen Umkreis von der Parenchymscheide umgeben. Die kleineren Leitbündel werden an der Holz- und Bastseite von den kristallführenden Zellen (*k*) begleitet. Über und unter ihnen sind die Epidermiszellen etwas gestreckt und bilden schwach vertiefte Streifen. Den Epidermiszellen über den Nerven entspringen lange, sklerenchymfaserähnliche Haare, die aber am ausgewachsenen Blatt größtenteils abgeworfen sind.

Unschwer wird man feststellen können, daß die Buchenblätter an sonnigen Standorten besonders dick sind, um so dünner aber werden, in je tieferem Schatten sie wachsen[2]). Die Dickenzunahme trifft, wie die mikroskopische Untersuchung zeigt, das Palisadenparenchym, das sich sehr bedeutend strecken und mehrschichtig werden kann. Das Palisadenparenchym ist eben vorzugsweise das Assimilationsgewebe der Pflanzen und erfährt in verschiedenen Fällen, so ganz ausgeprägt in den Laubblättern der Buche, eine um so stärkere Ausbildung, je intensiver das Licht war, in dem es sich entwickelte. Auch nach der Blattunterseite kann man in solchen Fällen zwischen dem Schwammgewebe und der unteren Epidermis noch eine allerdings lockerer gebaute und aus kürzeren und breiteren Zellen bestehende Palisadenschicht entwickelt finden. Die Palisadenzellen der Oberseite des Schattenblattes sind viel kürzer als die entsprechenden

[1]) Vgl. G. HABERLANDT, in Enzykl. d. Naturw., Handb. d. Bot., Bd. II, S. 614; J. SACHS, Vorlesungen über Pflanzen-Physiologie, 2. Aufl., Leipzig 1887, S. 59 ff.

[2]) Vgl. hierzu E. STAHL, Jen. Zeitschr. f. Naturw., Bd. XVI, 1883, und M. NORDHAUSEN, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXI, 1903, S. 30 ff., und Derselbe, Ebenda, Bd. XXX, 1912, S. 489. Ferner die zusammenfassende Darstellung von L. KNY, Text z. d. botan. Wandtafeln CXIII und CXIV, 1909, S. 502 ff., und G. HABERLANDT, l. c. 1918, S. 272 ff.

Zellen des Sonnenblattes. Sie erscheinen in Kegelform mit nach oben gerichteter Basis und lassen weitere Interzellularen zwischen sich, als an den gleichen Stellen im Sonnenblatt sich finden. Im übrigen ist die Epidermis der Sonnenblätter viel kräftiger gebaut als die typischer Schattenblätter. In Flächenansichten zeigt sich, daß die seitlichen Wände bei den Schattenblättern im Gegensatz zu denen der Sonnenblätter, bei denen dieses Verhalten nicht so ausgeprägt in die Erscheinung tritt, tief eingebuchtet sind. Die anatomischen Verschiedenheiten der Sonnen- und Schattenblätter bei unseren baum- und strauchartigen Gewächsen werden nicht ausschließlich durch den unmittelbaren Einfluß der verschiedenen Lichtintensität auf das jeweils sich entwickelnde Blatt hervorgerufen; in starkem Maße wirkt vielmehr der Belichtungsgrad mit, dem der Mutterzweig im vorangegangenen Jahr ausgesetzt war. In den Palisadenzellen der Buche sieht man die Chlorophyllkörner nur in der Profilstellung, d. h. an den gestreckten Seitenwänden verteilt und dort, je nach der Intensität der Beleuchtung, mehr oder weniger in das Zellumen hineinragen. In den Schwammparenchymzellen hingegen können die Chlorophyllkörner hier, je nach der Intensität der Beleuchtung, Flächenstellung oder Profilstellung zeigen, d. h. die der Blattoberfläche parallelen oder zu ihr senkrechten Flächen einnehmen. Die Chlorophyllkörner der Palisadenzellen werden zunächst von den Lichtstrahlen getroffen, während die Schwammparenchymzellen das durch Absorption in den Palisadenzellen bereits geschwächte Licht erhalten. Diesen Nachteil gleicht die in den Schwammparenchymzellen mögliche Flächenstellung z. T. aus. Wird aber die Intensität der Beleuchtung für das Schwammparenchym zu groß, so nehmen auch seine Chlorophyllkörner Profilstellung ein. In Buchenblättern, die im intensivsten Sonnenlicht sich entwickelten, wird fast das ganze, grüne Gewebe von Palisadenparenchym gebildet, während die im Verhältnis etwa dreimal dünneren Blätter, die im tiefen Schatten erwuchsen, außer einer obersten, niedrigen Palisadenschicht nur Schwammparenchym aufzuweisen haben[1]).

Ein Flächenschnitt des Blattes von Ficus elastica, der uns die Epidermis der Oberseite vorführt, zeigt an den dickeren Stellen, die auch das tieferliegende, grüne Gewebe enthalten, weiße, runde Flecke. In Gestalt weißer Stränge zeichnet sich außerdem das über den Leitbündeln befindliche Gewebe. Die Epidermiszellen erscheinen klein, ohne Spaltöffnungen: über den hellen Kreisen sind sie konzentrisch um einen Mittelpunkt angeordnet. Der Epidermis der Blattunterseite fehlen die hellen Flecke: nur die Nerven zeichnen sich hier als helle Stränge. Auf die Spaltöffnungen führen tiefe, oben von einem Ring umfaßte Grübchen. Der Querschnitt führt uns an diesem Blatt eine sonst nicht eben häufige Eigentümlichkeit vor, nämlich an der Ober- wie Unterseite das Vorhandensein einer dreischichtigen Epidermis (Fig. 152 *e*, *e*, *e*). Diese geht, wie die Entwicklungsgeschichte lehrt, durch tangentiale Teilungen aus einer ursprünglich einfachen Zellschicht hervor. Die Epidermis der Oberseite besteht aus einer kleinzelligen, äußeren Schicht mit stark nach außen verdickten Wänden, einer zweiten Schicht von etwa doppelter Höhe und Breite und einer dritten, deren Zellen wieder etwa doppelt so hoch und durchschnittlich breiter als jene der zweiten sich zeigen. Alle diese Zellen sind chlorophyllos, mit flachen, unregelmäßig verteilten Tüpfeln, sehr dünnem Zytoplasmaschlauch, mit Zellkern und

[1]) Vgl. noch S. Rywosch, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXV, 1907. S. 196, und R. Paulmann, Flora, Bd. CVII, 1915, S. 227 ff.

farblosem Zellsaft versehen. Sie stellen das kräftig entwickelte Wasserreservoir dieser Blätter vor. Einzelne Zellen der dritten Schicht sind bedeutend angeschwollen und ragen nach innen in das grüne Gewebe hinein, während nach außen die Zellen der zweiten Schicht über ihnen abgeflacht erscheinen. Diese großen Zellen sind es, die in der Oberflächenansicht als helle Flecke durchschimmern. Soweit nicht durch das Messer beim Schneiden herausgerissen, sieht man in jeder dieser Zellen einen traubenförmigen Körper, den sog. Zystolithen (*c*), an einem Stiel hängen. In besonders günstigen Fällen ist festzustellen, daß der Stiel auf eine Trennungswand der über ihm liegenden Zellen der zweiten und auch der ersten Schicht trifft. Die Ansatzstelle des Stiels ist nämlich der Mittelpunkt, der uns in Flächenansicht auffiel, und um den wir die Epidermiszellen angeordnet sahen. Die Zellen der ersten und zweiten Schicht entsprechen sich hier in ihrer Anordnung; unter ihnen liegt die eine große Zelle der dritten Schicht, in der somit eine diesbezügliche Zellteilung unterblieb. Der Stiel ist kürzer oder länger, oft hin und her gekrümmt und knorrig; er trägt den ellipsoidischen, mit brustwarzenförmigen Vorsprüngen versehenen Körper. In jeder dieser Warzen läßt sich ein zentraler Punkt, scheinbar ein Porus, erkennen. Die Zystolithen enthalten anscheinend etwas Kieselsäure, sind aber besonders stark mit kohlensaurem Kalk inkrustiert; läßt man Essigsäure auf den Schnitt einwirken, so wird der Zystolith rasch angegriffen: es entweicht Kohlensäure, und der Zystolith erscheint alsbald als ein zackiger, deutlich geschichteter Körper. Wo der kohlensaure Kalk in weniger großer Menge vorhanden ist, empfiehlt es sich, zu dessen Nachweis konz. Salzsäure anzuwenden, damit die Kohlensäure rasch in Blasenform ausgeschieden und nicht in unsichtbarer Form von der umgebenden Flüssigkeit absorbiert werde. Der inkrustierende kohlensaure Kalk ist die Ursache, weshalb sich in Schnitten, die in Silberlösungen, etwa 1-proz. salpeters. oder schwefels. Silber, gelegt werden, die Zystolithen schon im Dunkeln durch Reduktion der Silberlösung schwarz färben[1]). Die konzentrischen Schichten des Zystolithen beziehen sich auf den Stiel als gemeinsamen Mittelpunkt; sie zeigen sich von dichteren Strängen senkrecht durchsetzt, die sich in ihrem Verlauf gabeln können und in den Vorsprüngen enden, die den Warzen entsprechen. Mit Chlorzinkjodlösung färbt sich der Körper schmutzig bis rein violett; die radialen Stränge sind besonders zellulosereich. Die Zystolithen führen neben Zellulose auch Pektinstoffe[2]); ob sie

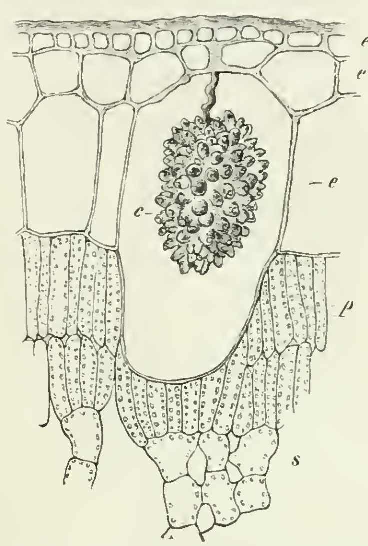


Fig. 152. Querschnitt durch das Blatt von Ficus elastica. *c* Zystolith, *e*, *e*, *e* dreischichtige Epidermis, *p* Palisadenparenchym, *s* Schwammparenchym. Vergr. 240.

---

[1]) H. Molisch, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXVI, 1918, S. 478. S. a. Reg. IV Zystolithen.

[2]) L. Mangin, Compt. rend. Acad. Paris, Bd. CXV, 1892, S. 26

außerdem Kallose enthalten, ist zum mindesten fraglich[1]). — In der Epidermis der Unterseite unterscheiden sich die Zellen der drei Schichten weit weniger in ihrer Größe, doch nimmt diese auch hier von außen nach innen zu. Die Schließzellen der Spaltöffnungsapparate sind an der Grenze zwischen der zweiten und dritten Epidermisschicht inseriert. Auf die Epidermis der Oberseite folgt eine doppelte Schicht gestreckter, chlorophyllreicher Palisadenzellen. Diese neigen in der zweiten Schicht büschelförmig zusammen, um an die Sammelzellen anzuschließen. An die Epidermis der Unterseite setzt ebenfalls eine Palisadenschicht an, die aber einfach und niedrig bleibt und über den Spaltöffnungen unterbrochen erscheint. Das Innere des Blattes wird von Schwammparenchym eingenommen, das ein weites Netzwerk mit lufterfüllten Maschen bildet. Die Leitbündel, die, wie auch sonst in Blättern, ihren Gefäßteil nach oben, ihren Siebteil nach unten kehren, zeigen sich an der Siebteilseite von Sklerenchymfasern gestützt und von einer Parenchymscheide umgeben, nach der die Schwammparenchymzellen allseitig zusammenneigen. Über den größeren Leitbündeln ist das Palisadenparenchym der Ober- und Unterseite unterbrochen; daher zeichnet sich der Verlauf dieser Leitbündel als chlorophyllloser Streifen in der Flächenansicht. Auch hier werden die Leitbündel von kristallführenden Zellzügen begleitet.

Es dürfte von Interesse sein, hier auch das Blatt einer Crucifere sich anzusehen, um die als „Eiweißschläuche“ oder „Myrosinzellen“ bezeichneten Idioblasten kennenzulernen, wie sie für die meisten Cruciferen nachgewiesen worden sind[2]). Tatsächlich sind es diese Idioblasten, die das Myrosin führen[3]), jenes Enzym, das die in den Cruciferen außerdem noch enthaltenen Glykoside (myronsaures Kali, Sinigrin, Sinalbin u. a.) spaltet, wobei Senföle frei werden. Da das Myrosin und die Glykoside getrennt voneinander in bestimmten Zellen lokalisiert sind, so kann die Bildung von Senföl nicht erfolgen, solange die Pflanze lebt bzw. nicht verletzt ist[4]). Wir wählen als Beobachtungsobjekt den Rettich, Raphanus sativus. Die Eiweißschläuche kommen in der gesamten Pflanze vor und lassen sich leicht in den Blättern nachweisen. In frischen Blättern erscheinen sie mit einer wasserhellen Flüssigkeit erfüllt. In Alkohol-Material ist ihr Inhalt geronnen. Nach Behandlung mit MILLONschem Reagens treten die Idioblasten scharf hervor. Zwar färbt dieses Reagens auch den plasmatischen Inhalt der übrigen Mesophyllzellen, doch weit intensiver den der Myrosin-führenden. Diese werden kräftig rot, der Inhalt der anderen Zellen aber nur blaß rosenrot. Es empfiehlt sich, das Alkohol-Material zunächst einige Augenblicke mit Wasser, dem etwas Salpetersäure zugesetzt wurde, zu behandeln, damit bei Zusatz des Quecksilbersalzes keine Fällungen eintreten. Querschnitte durch Blätter von Raphanus sativus lehren uns, daß das Mesophyll zwischen den beiden Epidermen der Ober- und Unterseite von 3 Palisadenschichten und etwa 5—6 Schwamm-

[1]) L. MANGIN führt sie in seiner späteren Mitteilung, C. R. Acad. Paris, Bd. CLI, 1910, S. 279, nicht mehr unter den kallosehaltigen Objekten an. Wohl aber TSVETT, Ebenda, Bd. CLIII, 1911, S. 503. Über den Nachweis der Kallose s. S. 249. Vgl. dagegen E. W. SCHMIDT, Bau und Funktion der Siebröhre der Angiospermen. Jena 1917, S. 71 ff.

[2]) Vgl. E. HEINRICHER, Mitt. des bot. Inst. zu Graz, Bd. I, 1886, S. 7. J. H. SCHWEIDLER, Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. XXVI, 1. Abt., 1910, S. 425 ff. Über besondere Fixierungs- und Färbungs-Methoden vgl. Reg. IV Eiweißschläuche.

[3]) L. GUIGNARD, Journ. de Bot., Bd. IV, 1890, S. 385 ff. S. a. Reg. IV Myrosin.

[4]) A. NATHANSOHN, Der Stoffwechsel der Pflanzen, Leipzig 1910, S. 263.

parenchymlagen gebildet wird. Die Myrosinzellen sind vorwiegend im Schwammparenchym verteilt und treten uns dort, an ihrem Inhalt kenntlich, als schlauchförmige Gebilde entgegen. Ein Konvergieren der Mesophyllzellen nach den Myrosinzellen fällt meist deutlich auf. Am besten unterrichten wir uns über Gestalt und Verteilung der Myrosinzellen an den Flächenschnitten. Da treten sie nach Behandlung mit Millons Reagens sehr auffällig hervor. Die Schläuche sind von wenig regelmäßiger Gestalt, mehr oder weniger gekrümmt und meist von nicht bedeutender Länge; sie erscheinen für gewöhnlich einfach, manche mit Andeutung von Verzweigung; Anastomosen zwischen benachbarten Schläuchen sind aber selten. — Noch besser wie Alkohol fixiert den Inhalt siedendes Wasser, auch Pikrinsäure. Namentlich an den mit siedendem Wasser fixierten Präparaten, die den geronnenen Inhalt etwas geschrumpft zeigen, kann man feststellen, daß außer diesem Inhalt ein zarter Plasmaschlauch vorhanden ist, der die Wand der Zelle auskleidet, und daß stets ein Zellkern in diesem Wandbeleg liegt. Die mit siedendem Wasser fixierten Blätter lassen sich ohne weitere Änderung sehr gut in Alkohol aufbewahren. Mit Salzsäure erwärmt, nimmt Myrosin noch unterhalb des Siedepunktes eine blaß rosenrote Färbung an, die zu Violett fortschreitet. Hingegen geben Diastase und Emulsin, mit kochender Salzsäure mehrere Minuten lang behandelt, nur eine gelbliche Färbung, die in schwaches Rotviolett übergeht. Sehr rasch tritt ihre Violettfärbung nach Zusatz von Orzin ein: diese Reaktion kommt in gleichem Maße auch dem Myrosin zu. Die mit myrosinhaltigen Zellen ausgestatteten Gewebe kann man benutzen, um in einer etwa 2-proz. Lösung von myronsaurem Kali die Bildung von Allylsenföl zu veranlassen, das an seinem für Mostrich charakteristischen Geruch leicht kenntlich wird.

Ähnliche myrosinhaltige Zellen, wie bei Cruciferen, finden sich auch bei den Capparideen, Tropaeoleen, Limnantheen, Resedaceen und Papayaceen [1]); es kommen diesen Pflanzenfamilien auch Glykoside zu, die durch jenes Enzym gespalten werden.

Wir wollen auch den Leitbündelverlauf und die Leitbündelendigungen in einem Laubblatt verfolgen und wählen als Beispiel die relativ dünnen Blätter der jetzt überall verwilderten kleinblütigen Balsamine, Impatiens parviflora. Diese Blätter werden zunächst in Alk. abs. gehärtet und entfärbt und dann entsprechend große Stücke in ein Gemisch von 3 T. Terpentin und 1 T. Kreosot, oder in ein Gemisch von Kreosot und Alkohol, oder in reines Phenol (Karbolsäure), oder, was am meisten zu empfehlen ist, in eine Lösung von 8 T. Chloralhydrat in 5 T. Wasser eingelegt. Das Blatt wird alsbald so durchsichtig, daß man jeden optischen Durchschnitt von ihm einstellen kann. — Wir legen das Blattstück mit der Unterseite nach oben und sehen zunächst die aus stark gebuchteten Zellen gebildete Epidermis mit ihren Spaltöffnungen; dann ein sehr weitmaschiges Schwammparenchym; hierauf die im optischen Schnitt runden Palisadenzellen, dann die Epidermis der Oberseite, deren Zellen so wie die der Unterseite gebuchtet sind, die jedoch ohne Spaltöffnungen ist. Das Palisadenparenchym ist sehr reich an durch den Alkohol entfärbten Chlorophyllkörnern, während solche im Schwammparenchym nur spärlich vertreten sind. Stellenweise finden sich im Schwammparenchym lange, spindelförmige Zellen, die in ihrem Innern eine gestreckte, stark lichtbrechende Schleimmasse zeigen, in der ein Raphidenbündel liegt. In jüngeren Blättern kann man

[1]) L. Guignard, Journ. de Bot., Bd. VII, 1893, S. 345, u. Bd. VIII, 1894, S. 67.

dieses in der Entwicklung begriffen sehen. Das Blatt ist von einem starken Mittelnerv durchsetzt, von dem kräftigere und schwächere Seitennerven ausgehen. Der Mittelnerv endet in der Blattspitze; die kräftigen Seitennerven erster Ordnung laufen gegen den Blattrand, um dort im Bogen an nächsthöhere anzusetzen. Von den Seitennerven erster Ordnung entspringen Seitennerven zweiter Ordnung, und diese geben sukzessive Zweige noch höherer Ordnungen ab. Je höher der Grad der Verzweigung, um so dünner die Nerven, die schließlich nur noch wenige, ja selbst nur eine Ringgefäßtracheïde besitzen. Die dünnen Bündelauszweigungen liegen im Schwammparenchym; sie anastomosieren miteinander zu einem feinen Netz und endigen schließlich blind innerhalb der Maschen. Man kann feststellen, daß bis zuletzt die Gefäßtracheïden von schlauchförmigen Elementen des Siebteils begleitet werden; nur sehr kurze Seitenzweige bestehen aus Gefäßtracheïden allein. Bis zuletzt bleibt das Bündel auch umscheidet von einer einfachen Schicht lückenlos verbundener, in der Richtung des Leitbündelverlaufs gestreckter Mesophyllzellen (Fig. 153). Diese Parenchymscheide schließt auch vor dem Leitbündelende lückenlos ab. Sie gehört dem Mesophyll an, und zwar entspricht sie der innersten Rindenschicht, dem Phloeoterma, des Stengels. Bis zuletzt bleiben so die Gewebe des Zentralzylinders des Stammes, der durch die Leitbündel und die es zunächst meist begleitenden Sklerenchymscheiden im Blatt vertreten ist, und das Gewebe der primären Rinde, das im Blatt das Mesophyll bildet, voneinander getrennt[1]). Die scharfe Ausbildung der parenchymatischen, dem Mesophyll angehörenden Leitbündelscheide pflegt sich erst in den feineren Auszweigungen der Leitbündel, nach entsprechender Reduktion der zum Grundgewebe des Zentralzylinders zu rechnenden Sklerenchymscheiden einzustellen. In monokotylen Blättern harren die Sklerenchymscheiden des Zentralzylinders oft bis zuletzt aus. — Die Zellen der Leitbündelscheiden an den Leitbündelendigungen von Impatiens parviflora führen weniger Chlorophyllkörner als die anschließenden Schwammparenchymzellen, und zwar liegen jene Körner nur an den von dem Leitbündel abgekehrten Wänden (Fig. 153). Die größeren Bündel sind von ganz chlorophyllarmen, langgestreckten Parenchymzellen umgeben, die an der Ober- und Unterseite, namentlich aber an letzterer, einen kräftigen Strang bilden. Die größeren Leitbündel werden von besonders zahlreichen Kristallschläuchen begleitet. Soweit die Nerven an der Blattunterseite vorspringen, sind sie von gestreckten, geradwandigen Epidermiszellen bedeckt. Ein entsprechender, doch weit schmälerer, vorspringender Streifen gestreckter Epidermiszellen findet sich über solchen Nerven auch an der Blattoberseite. Ein kräftiger Leitbündelzweig tritt in jeden Zahn des Blattrandes ein und schwillt dort vor dem Erlöschen an. Der Zahn ist an seiner Spitze abgestorben und gebräunt; in der Jugend trug er

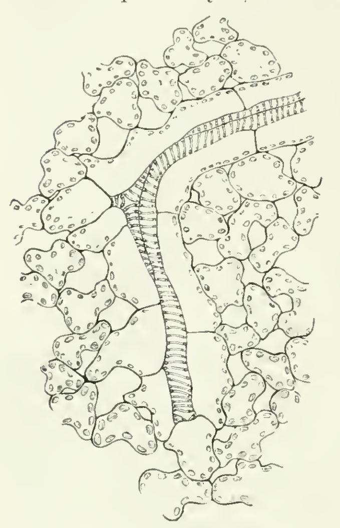


Fig. 153. Leitbündelendigung im Blatt von Impatiens parviflora. Vergr. 240.

[1]) Vgl. im übrigen E. STRASBURGER, Leitungsbahnen, 1891, S. 485.

eine sezernierende Drüsenzotte. Die Zellen des Blattrandes sind an ihrer Außenseite stärker verdickt und springen etwas papillenartig vor. — Bei Betrachtung der durchsichtig gemachten Blatteile fällt es bereits auf, daß ein Teil der Schwammparenchymzellen abweichenden, stärker lichtbrechenden und bräunlich gefärbten Inhalt führt. Das wird noch auffallender an Blattstücken, die man in Korallin-Soda einlegt. Werden diese nach solcher Behandlung in Wasser untersucht, so treten Teile des Schwammparenchyms als blaß bräunlichgelb gefärbte Netze hervor. Trotz der geringen Dicke der Blätter ist es nicht eben schwer, Flächenschnitte aus frischen Blättern zu erhalten und nach Behandlung mit molybdänsaurem Ammon-Chlorammon oder mit Kaliumbichromat auf Grund der erfolgten Reaktion die Wahrscheinlichkeit zu erlangen, daß die auch in frischem Zustand durch stärkere Lichtbrechung auffallenden Zellzüge im Schwammparenchym gerbstoffhaltig sind. Daher rührt auch die braune Färbung des Inhalts an den Alkoholpräparaten. Die Zellzüge dienen somit u. a. dazu, gewisse Nebenprodukte des Stoffwechsels aufzunehmen. — So vorzüglich das Blatt von Impatiens parviflora dazu geeignet ist, als Ganzes durchsichtig gemacht zu werden, so schwer wird es, durch seine dünne Lamina gute Querschnitte zu erhalten. Wir ziehen es vor, diese aus frischem Material herzustellen, bemerken aber, daß gute Schnitte leichter aus Alkohol-Material zu gewinnen sind. Der Querschnitt durch die Lamina zeigt im wesentlichen die nämlichen Verhältnisse, wie sie uns bei Buchenblättern von mäßig beleuchtetem Standort entgegengetreten waren. Auf die Epidermis der Oberseite folgen in einfacher Schicht die gegeneinander seitlich getrennten, sich nach dem Blattinnern zu etwas verjüngenden Palisadenzellen. Diese setzen an die Schwammparenchymzellen an, die als lockeres Maschenwerk in mehreren Etagen bis zu der mit Spaltöffnungen versehenen Epidermis der Unterseite reichen. Nach den schwächeren Bündeln zu sieht man die Schwammparenchymzellen konvergieren. Der Querschnitt durch den Blattstiel führt uns in großzelligem Grundgewebe drei Leitbündel vor, die in einem nach oben zu offenen Bogen angeordnet sind und eine gemeinsame, wenig scharf abgesetzte Stärkescheide an ihrer Außenseite aufweisen. In dem Mittelnerv geben die Bündel fortgesetzt seitliche Zweige ab und vereinigen sich allmählich zu einem einzigen Bündel. Die Seitennerven sind von Anfang an mit nur einem Bündel versehen. Die gestreckten Parenchymzellen, welche die stärkeren Bündel umfassen, sind weitlumiger und besonders zahlreich am Siebteil; daher springen die Nerven nach der Blattunterseite weit stärker vor. Die unteren, länger gestielten Blätter zeigen in der Mittelrippe, oberhalb der Bündel, z. T. auch im Blattstiel, einen mit Luft erfüllten Interzellulargang.

Seiner geringen Dicke und doch relativ großen Resistenzfähigkeit wegen ist das Blatt von Impatiens parviflora auch besonders geeignet zu Versuchen über Bildung und Wanderung der Kohlenhydrate, die bei der durch das Chlorophyll bewirkten Kohlenstoffassimilation erzeugt werden[1]. Wird ein am Abend eines hellen Sommertags gepflücktes Blatt in Alkohol gelegt, nach erfolgter Entfärbung in eine Chloralhydrat-Lösung, der etwas Jodjodkalium zugesetzt wurde, übertragen und in ihr 12—24 Std. belassen oder auch einige Std. mit Javellescher Lauge und hierauf mit Jodlösung behandelt, — auch Jodphenol (vgl. Reg. IV) leistet gute Dienste — so er-

[1]) Vgl. A. F. W. Schimper, Bot. Ztg., XLIII. Jahrg., 1885, Sp. 737, und die früheren Arbeiten von J. Sachs, Arb. d. bot. Inst. zu Würzburg, Bd. III, 1885, S. 739.

scheint das Blatt im auffallenden Licht blauschwarz, im durchfallenden Licht dunkelviolett. Diese Färbung, die sich übrigens durch Einlegen der getrockneten Blätter zwischen Glasplatten konservieren läßt[1]), rührt von der in den Chlorophyllkörnern des Mesophylls vertretenen, in dem Chloralhydrat etwas gequollenen und durch Jod gefärbten Stärke her, während die stärkeren Nerven schmutziggelb oder grünlich, der Blattrand und die Blattzähne gelb erscheinen, somit stärkefrei sind. Das läßt sich bei mikroskopischer Untersuchung in allen Einzelheiten sicherstellen. — Wird die Pflanze 24 Std. lang verdunkelt, alsdann Blätter in Alkohol gelegt und weiter wie oben verfahren, so ist das Bild ein ganz anderes. Das Blatt zeigt jetzt, abgesehen von einigen bereits ganz von Stärke entleerten und daher gelb erscheinenden Flecken, ein äußerst feinverzweigtes, gelbes Netz auf dunkelblauem Grund. Die mikroskopische Untersuchung lehrt, daß das gelbe Netz dem ganzen Nervensystem des Blattes entspricht, während wir in dem zuerst untersuchten Blatt nur die stärksten Nerven stärkefrei fanden, die Scheiden der schwächeren hingegen Stärke führten. Wie die Scheiden der Bündel, so sind auch die zunächst an sie grenzenden Mesophyllzellen entleert, während in größerer Entfernung von den Bündeln sich noch Stärke im Mesophyll vorfindet. Blätter, die einer 48 Std. lang verdunkelten Pflanze entnommen wurden, zeigen fast gar keine Stärke mehr. — Das Lösungsprodukt der Stärke ist eine Glykose, und diese wird durch die Bündelscheide, wahrscheinlich auch durch die Siebröhren, nach dem Stengel abgeleitet[2]). Hiervon überzeugen wir uns, indem wir Blätter einer verdunkelten Pflanze auf ihren Glykosegehalt untersuchen. Wir bedienen uns hierzu des auf S. 177 besprochenen Verfahrens, indem wir frische Blattstücke in Fehlingscher Lösung direkt auf dem Objektträger erwärmen. Während zunächst die Glykose, sowohl im Mesophyll als auch in den Bündelscheiden, an dem Niederschlag von Kupferoxydul nachzuweisen ist, sehen wir bei anhaltender Verdunkelung nach gänzlicher Auflösung der Stärke die Glykose sowohl aus dem Mesophyll wie aus den Scheiden der feinsten Bündel schwinden; die Scheidenelemente der stärkeren Bündel und anscheinend auch deren Siebröhren sind jedoch dann noch zuckerhaltig. Hierauf entleeren sich auch die stärkeren Seitennerven, dann der Hauptnerv fortschreitend von oben nach unten und zuletzt der Blattstiel. Die gänzliche Entleerung der Spreite nimmt 4—5 Tage in Anspruch. Die Stärke der Stärkescheiden der Leitbündel im Hauptnerv und im Blattstiel wird während dieser Vorgänge nicht aufgelöst[3]), sie läßt sich auch jetzt noch nachweisen. Wertvoller als die Reaktion mit Fehlingscher Lösung, bei deren Anwendung infolge des Erwärmungsprozesses viel Zucker aus den Zellen diffundieren kann, ferner oft der Kupferoxydulniederschlag nicht immer leicht als solcher zu erkennen ist, schließlich von den Zuckerarten sich nur Glykose nachweisen läßt, hat sich für die in Frage stehenden Untersuchungen die Senftsche Methode zum mikrochemischen Zuckernachweis mittels essigsaurem Phenylhydrazin (s. S. 180) erwiesen[4]). Früher oder später, je nach der Art des in den Geweben vorhandenen Zuckers, treten

[1]) Nach A. Meisling, Botan. Tidskr., Bd. XXXIV, Kopenhagen, 1915, S. 68.

[2]) Über die Stoffwanderung im Chlorophyllgewebe vgl. S. Rywosch, Bot. Ztg., LXVI. Jahrg., 1908, I. Abt., S. 121, und Zeitschr. f. Bot., I. Jahrg., 1909, S. 571.

[3]) Vgl. A. F. W. Schimper, l. c. 1885, Sp. 757; H. Heine, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. III, 1885, S. 189.

[4]) Vgl. S. Mangham, Science Progress in the XX. Century, Nr. 19, Jan. 1911, S. 475.

in den zuckerführenden Zellen durch Einwirkung des Reagens gelbe Osazone in verschiedenster Forme auf. Mit Hilfe dieser Methode ist u. a. die Annahme CZAPEKS[1]) wahrschinlicher gemacht worden, daß in den Siebröhren eine Weiterleitung des in den Blättern gebildeten Zuckers stattfindet[2]). — Werden stärkereiche Blätter von der Pflanze abgelöst und auf feuchter Unterlage unter Glasglocke im Dunkeln frisch erhalten, so geht die Stärke in Glykose über, die, weil sie nicht abgeleitet werden kann, sich in bedeutenden Mengen in dem Blatt anhäuft[3]). — Die Umwandlung der Stärke zu Glykose ist auf die Einwirkung eines diastatischen Ferments zurückzuführen, wie sich experimentell ebenfalls leicht feststellen läßt[4]). Wir schneiden zu diesem Zweck mehrere Blätter in kleine Stückchen, zerreiben sie in etwas Aq. dest. und filtrieren die Flüssigkeit ab. Dieser Flüssigkeit setzen wir eine geringe Menge von 1-proz. Kartoffelstärkekleister zu, den wir bei Siedehitze hergestellt haben, und stellen fest, daß die gequollenen, doch deutlich unterscheidbaren Stärkekörner nach 24 Std. vollständig aufgelöst sind. — Andererseits sind die Impatiensblätter befähigt, eine Zuckerlösung mit der Oberfläche aufzunehmen und Stärke aus ihr zu bilden. Ein Blatt, das wir mehrere Tage lang verdunkelten und das nachweisbar stärke- und zuckerfrei geworden war, legen wir mit der Unterseite auf eine 3-proz. Zuckerlösung, ohne den Blattstiel in sie zu tauchen. Schon nach 4—5 Std. können wir Glykose in den Nerven nachweisen, und nach 24—48 Std. ist auch das Vorhandensein von Stärke in dem Blatt, vornehmlich in den Nerven, festzustellen. Dieselben Blätter, die auf der Zuckerlösung sehr zuckerreich geworden, geben hingegen an reines Wasser keine nachweisbaren Zuckermengen ab.

Wie die Verteilung der Stärke, so können wir auch die des Eiweißes in den Pflanzenorganen durch ein bestimmtes Verfahren makroskopisch und zwar besonders schön an ganzen Blättern feststellen[5]). Wir wählen am besten ein Blatt der Kapuzinerkresse (Tropaeolum majus), legen es in heißen 80-proz. Alkohol, bis das Chlorophyll ausgezogen ist und das Blatt weiß erscheint. An so vorbereiteten Blättern kann man die bekannten Eiweiß-Reaktionen (vgl. S. 120, 121) durchführen. Will man z. B. die Xanthoproteïn-Reaktion vornehmen, so bringt man das Blatt in verd. Salpetersäure (1 T. käufl. konz. Salpetersäure und 2 T. Aq. dest.). Schon nach wenigen Minuten erscheint das Blatt schwach gelb; nach $1/2$ bis 1 Std. ist die Färbung immer intensiver geworden. Überträgt man nun das Blatt in verd. Ammoniak (1 T. käufl. Ammoniak in 2 T. Wasser), so wird die Gelbfärbung noch verstärkt. Auch die BIURET- (s. S. 137) und MILLONsche Probe (s. S. 120) läßt sich mit günstigem Erfolg an solchen Blättern durchführen[6]).

[1]) FR. CZAPEK, Sitzber. K. Akad. Wiss. Wien, Bd. CVI, 1897, S. 117 ff., ferner Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XV, 1897, S. 124, u. Bot. Zentralbl., Bd. LXXII, 1897, S. 74. Vgl. auch die Versuchsergebnisse von N. T. DELEANO, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LI, 1911, S. 129, ferner W. GAST, Dissert., Würzburg 1917, und H. KYLIN, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. CI, 1918, S. 77.

[2]) S. MANGHAM, l. c. 1911.

[3]) Vgl. im Zusammenhang damit S. V. SIMON, Zeitschr. f. Bot., Bd. XII, 1920, S. 605 ff.

[4]) Nach dem Verfahren von J. BARANETZKI, Die stärkeumbildenden Fermente in der Pflanze, Leipzig 1878, und A. F. W. SCHIMPER, l. c. 1885, Sp. 742. Vgl. dazu auch L. JOST, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, 3. Aufl., 1913, S. 213 ff.

[5]) H. MOLISCH, Zeitschr. f. Bot., Bd. VIII, 1916, S. 124. Vgl. a. A. MEYER, Flora, Bd. CXI—CXII, 1918, S. 88.

[6]) Das Nähere bei H. MOLISCH, l. c. 1916, S. 126.

Wir suchen noch nach einem günstigen Objekt für das Studium der Leitbündelenden und wählen die Blätter von Cucurbita Pepo für diese Untersuchung[1]). Zwar besitzen die Bündel dieser Blätter bikollateralen Bau und weichen dadurch von gewohnten Normen ab, doch wir brauchen tatsächlich nur von ihren oberen Siebteilen abzusehen, um gewohnte Verhältnisse zu erhalten. Da wir bei unserer Untersuchung den Zellinhalt zu berücksichtigen haben, so benutzen wir Alkohol-Material. Trotzdem die Blätter von Cucurbita Pepo ziemlich stark sind, so lassen sich doch die mit Alkohol gehärteten und entfärbten Laminarteile mit Chloralhydratlösung hinlänglich durchsichtig machen, um ohne weitere Präparation einen Einblick in die Verteilung der Leitbündel zu gestatten. Der Verlauf der Leitbündel in der Lamina ist ein typisch netzförmiger; die letzten Auszweigungen endigen blind innerhalb der Maschen. In den Blattzähnen laufen je ein kräftigeres, mittleres und zwei schwächere, seitliche Bündel zusammen, um sich dort vor dem Erlöschen pinselförmig zu verbreitern. Die Zahl der Leitbündel nimmt in den Blattrippen, dem sinkenden Durchmesser dieser entsprechend, ab. Der runde Blattstiel ist, wie Querschnitte zeigen, hohl und hat 9—16 im Kreise angeordnete Leitbündel aufzuweisen. Das größte, unpaare dieser Bündel kommt in die Mediane an der Unterseite des Blattstiels zu liegen. Die Leitbündel haben im Blattstiel denselben bikollateralen Bau, wie wir ihn früher (S. 245) eingehend im Stengel studiert haben, und so erhält sich ihr Bau zunächst auch in den Blattrippen. In den feineren Nerven sinkt die Zahl der Bündel schließlich auf ein einziges hinab. Die Bündel erfahren dabei eine fortschreitende Vereinfachung, ohne jedoch ihren bikollateralen Bau einzubüßen; der obere Siebteil wird alsbald sehr stark reduziert. — Um diese und die weiteren Verhältnisse sicherzustellen, sind sehr zarte Querschnitte nötig; sie werden in Glyzerin untersucht. Nachdem wir uns aber über das Verhalten des Zellinhalts unterrichtet haben, kontrollieren wir die Verteilung der Elemente an Schnitten, die wir mit Javellescher Lauge (s. darüber S. 349) behandeln, und die uns nur noch das Netz der Zellwände im Bilde vorführen. Querschnitte durch frisches Material vervollständigen schließlich den Eindruck. — Die Lamina führt unter der Epidermis der Oberseite eine hohe, dann eine zweite, niedrigere Palisadenschicht, und an letztere setzt eine mehrschichtige Schwammparenchymlage an, die aber kaum ein Drittel der ganzen Blattdicke beträgt. Dann folgt die spaltöffnungführende Epidermis der Unterseite. Die uns von früher her (S. 147) bekannten Haargebilde sitzen der Epidermis der beiden Flächen auf. Sehen wir von allen den stärkeren Leitbündeln ab, die innerhalb der noch vorspringenden Nerven verlaufen, so finden wir den oberen Siebteil nur noch aus einer Reihe übereinander liegender Zellen gebildet. Diese Zellreihe springt alsbald nur noch wenig in die obere Schicht der Palisadenzellen vor; es schränkt sich überhaupt das ganze Bündel immer mehr auf die Höhe der zweiten Palisadenschicht ein. Mit der Reduktion des oberen Siebteils erfolgt zugleich eine solche des Gefäßteils, der bis auf eine einzige Gefäßtracheïde zurückgeht. Diese ist an ihrer dickeren Wandung auch im Querschnitt unschwer zu erkennen. Von ihr ausgehend finden wir alsdann nach der Blattoberseite zu im all-

[1]) Vgl. auch A. Fischer, Unters. über das Siebröhrensyst. d. Cucurbitaceen 1884; Studien üb. d. Siebröhren d. Dikotylenblätter, 1885, und Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. III, 1885, S. 230; L. Koch, Bot. Ztg., XLII. Jahrg., 1884, Sp. 401; E. Strasburger, Leitungsbahnen, 1891, S. 296.

gemeinen drei Zellen: eine meist etwas flachere, der Gefäßtracheïde anliegende Vasalparenchymzelle, eine stets ziemlich weite Siebröhre und über ihr die ihr zugehörige, flache Geleitzelle. Alle diese Zellen haben ungefähr dieselbe Breite wie die Gefäßtracheïde und liegen übereinander. Diese relativ schon frühzeitig erfolgte Reduktion erhält sich annähernd unverändert bis zum Erlöschen des Bündels. Unter der Gefäßtracheïde schreitet die Vereinfachung hingegen weit langsamer fort. Während über der Gefäßtracheïde nur noch die eine Zellreihe zu sehen ist, zeigt sich der untere Siebteil aus einer Mehrzahl von Zellen aufgebaut. Eine Vasalparenchymzelle trennt auch den unteren Siebteil von der Gefäßtracheïde. Es ist schwer, in diesem unteren Siebteil Siebröhren und Geleitzellen voneinander zu unterscheiden, doch bleiben letztere an ihrem dichteren Inhalt kenntlich. Der Vergleich der unteren (äußeren) Siebteile der Stengel-, Blattstiel- und Laminarbündel in fortschreitender Reduktion lehrt uns außerdem auf das überzeugendste, daß die Siebröhren fortgesetzt an Weite abnehmen, und zwar bei weitem rascher als die Geleitzellen, deren Durchmesser im Verhältnis nur wenig sinkt. In den Bündelzweigen, wie wir sie zuletzt ins Auge gefaßt hatten, wiegt das Volumen der Geleitzellen über das der Siebröhren bereits vor. Die Siebröhren sind vornehmlich nach dem Innern des Siebteils, ihre Geleitzellen nach außen gekehrt. Außer den Siebröhren und ihren Geleitzellen sind auch noch einige Kribralparenchymzellen, am grobkörnigeren Inhalt kenntlich, vertreten. In den letzten Auszweigungen ist unter der Vasalparenchymzelle der untere Siebteil meist nur noch durch ein Paar stark angeschwollener, eiweißreicher, mit großem Zellkern versehener Elemente vertreten, zwischen denen und der Vasalparenchymzelle evtl. noch eine oder zwei sehr enge Zellen zu entdecken sind. Dieses sind die Siebröhren, die angeschwollenen Zellen ihre Geleitzellen. Die angeschwollenen, eiweißreichen Zellen setzen schließlich in Zweizahl oder Einzahl als „Übergangszellen“ den unteren Siebteil allein fort; eine Teilung der Mutterzellen in eine Siebröhre und Geleitzelle hat nicht mehr stattgefunden, und so gebaut hört das Bündel auf. Solche Bündelenden haben durchaus die Höhe der zweiten Palisadenschicht, und ihre Elemente lassen sich auf entsprechende Teilung einer Zellreihe aus jener Schicht zurückführen. Die angrenzenden Mesophyllzellen umschließen lückenlos das Bündel, ohne sonst besonders in ihrer Ausbildung ausgezeichnet zu sein, nur fällt auch hier auf, daß sie ihre Chlorophyllkörner an den von den Bündeln abgekehrten Zellwänden führen. — Längsschnitte der Bündel bieten sich in den Querschnitten der Lamina von selbst dar und werden die Eindrücke der Bündelquerschnitte vervollständigen und ergänzen. Die Siebröhre des oberen Siebteils zeigt in Längsansicht ziemlich regelmäßig an ihren Wänden verteilte, spindelförmig gestreckte Schleimtropfen, die evtl. auch in Siebröhren des unteren Siebteils zu erkennen sind. — Die Übergangszellen mit ihrem eiweißreichen Inhalt und ihren großen Zellkernen kehren, wenn auch meist in weniger auffallender Weise, bei den anderen Dikotylen wieder, und auch am Siebteilrand der Koniferenblätter findet sich ein aus solchen Übergangszellen gebildeter Saum[1]). Bei den Monokotylen ist endlich auch, übereinstimmend mit dem für Dikotylen geschilderten Verhalten, ein weit stärkeres Sinken des Querschnittes der Siebröhren als dessen der Geleitzellen in den Bündelenden festzustellen.

[1]) Vgl. E. STRASBURGER, Leitungsbahnen, 1891, S. 98 ff.

Wir hatten bei früherer Gelegenheit (S. 208) schon die Wasserspalten über den Enden der Hauptnerven von Tropaeolum majus, der Kapuzinerkresse, untersucht. Wir stellen jetzt ihr näheres Verhältnis zu dem inneren Blattgewebe fest. An Stücken vom Rand nicht zu dicker Blätter erkennen wir unschwer, daß dort, wo die Wasserporen liegen, die Zellen des Mesophylls chlorophyllärmer sind und dichter zusammenschließen. Die Beobachtung wird erleichtert, wenn man die Blattstückchen vor der Untersuchung in Alkohol taucht und so die der Oberfläche anhaftende Luft entfernt. Die Stellen, welche die Wasserporen tragen, treten jetzt als hellere, nach dem Blattrand zu sich erweiternde Gewebepolster hervor. Die An-

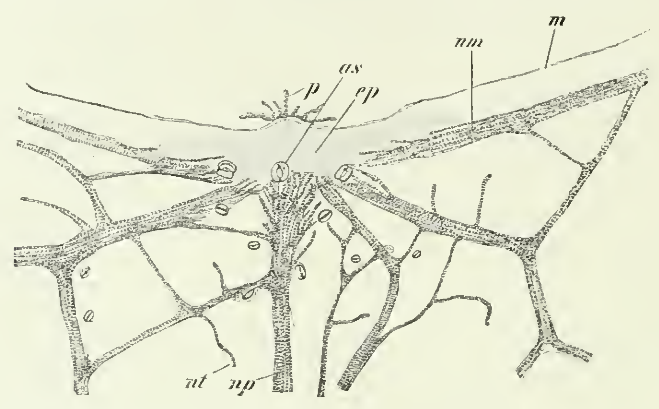


Fig. 154. Randpartie aus einem kräftigen Blatt von Tropaeolum majus, in Alkohol entfärbt und mit Karbolsäure durchsichtig gemacht. *m* Blattrand, *p* Haare, *ep* Epithem, *as* Wasserspalten, *nm* Randnerven, *np* Hauptnerv, *nt* eine Nervenendigung. Vergr. 45.

sichten der Blattunterseite und der Blattoberseite geben hier ziemlich übereinstimmende Bilder; sie zeigen das betreffende Mesophyll aus gebuchteten Zellen gebildet, die nach den Leitbündeln zu an Größe abnehmen und bis auf ganz enge Interzellularen dicht zusammenschließen. Der geringere Chlorophyllgehalt dieser Zellen und das Fehlen lufterfüllter Interzellularen verleiht dem betreffenden Polster die hellere Färbung. Die Zellen des Polsters gehen in geringer Entfernung vom Blattrand in das Palisaden- und Schwammparenchym der Lamina und in die Bündelscheide über. Unter jeder Wasserspalte befindet sich ein der Atemhöhle entsprechender Raum. Die Zahl der Wasserspalten schwankt; meist sind eine bis drei große und einige kleinere vorhanden. — Um die Beziehungen der Wasserspalten zum Leitbündel aufzuklären, bringen wir Blattstücke, die durch längeres Liegen in Alkohol entfärbt wurden, in Karbolsäure oder Chloralhydrat, wo sie alsbald durchsichtig werden (Fig. 154). Man hat auch für solche Untersuchungen, bei denen es nicht auf die Erhaltung des Zellinhalts ankommt, vielmehr nur auf das Durchsichtigmachen ganzer Blätter oder Blattstücke, auf ein möglichst deutliches Hervortreten der Nervatur und der Beziehungen der Leitbündelenden zu den Blattzähnen oder Wasserspalten, Aufhellen mit Javellescher Lauge und nachfolgende Färbung vorgeschlagen. Man legt dazu die Blätter auf 12 Std. in Javellesche Lauge, dann in 10-proz. Essigsäure, wobei der Zellinhalt zerstört wird, wäscht sie dann in angesäuertem, zuletzt in reinem Wasser gründlich aus, überträgt sie auf

12 Std. in gewöhnlichen Alkohol, hiernach auf 12 Std. in Alk. abs. und darauf in Terpentinöl. Die Färbung wird dann mit Methylgrün oder Methylviolett in Terpentin vollzogen. Diese Farbstoffe werden zunächst in Alk. abs. gelöst und diese Lösung mit Terpentin vermischt. In einigen Std. ist die Färbung vollzogen. Fiel sie zu kräftig aus, so hilft eine mehrstünd. Exposition im Sonnenlicht nach[1]). Gilt es, rasch zum Ziel zu kommen, so lassen sich auch Stücke frischer Blätter durch Kochen in Kali auf dem Objektträger unter Deckglas durchsichtig machen und geben, mit Alkohol vorsichtig ausgewaschen, gute Bilder. — Man stellt an solchen Präparaten nunmehr fest, daß außer dem Leitbündel eines Hauptnerven auch noch die zweier Randnerven in dem Gewebe unter den Wasserporen erlöschen. Die kurzen Schraubengefäße der Bündelenden schieben sich, etwas auseinanderweichend, zwischen die Zellen dieses Gewebes. Dieses an Stelle einfacher Parenchymscheiden die Bündelenden umschließende Gewebe wird als Decke des Leitbündelendes oder als Epithema[2]) bezeichnet. Über dem Epithema liegen die Wasserspalten, und zwar entweder eine, die dem Ende des Hauptbündels und der beiden Randbündel gemeinsam ist, oder, wie häufiger und wie es in der Figur 154 dargestellt ist, eine Wasserpore über jedem der drei Bündelenden. Während das Epithem von Tropaeolum augenscheinlich aus dem Mesophyll hervorgeht, gehören andere, so die an den Blättern der Rosetten des traubenblütigen Steinbrechs Saxifraga Aïzoon, dem Leitbündel an; es verdankt der Vermehrung der Vasalparenchymzellen seine Entstehung und wird, wie wir an entsprechenden Schnitten durch die mit weißen Ausscheidungen von kohlensaurem Kalk bedeckten Randzähne feststellen können, durch eine Leitbündelscheide von dem umgebenden Gewebe abgegrenzt. — Am frühen Morgen findet man häufig dem Rand der Tropaeolum-Blätter anhaftende Tropfen vor, die stärker als gewöhnliches Wasser das Licht brechen. Sie sind an den Wasserspalten ausgetreten und stellen aus den Leitbündelenden ausgepreßtes Wasser dar, das geringe Mengen anorganischer und organischer Stoffe in Lösung führt. Aus Topfexemplaren von Tropaeolum, die man gut begossen hat und die man behufs Herabsetzung der Transpiration mit einer Glasglocke überdeckt, sind alsbald Wassertropfen hervorzulocken.

Die wasserausscheidenden Organe der Pflanzen faßt Haberlandt[3]) als Hydathoden zusammen. Sie pressen das Wasser entweder selbsttätig aus oder lassen es nur einfach durchfiltrieren, wenn der sog. Blutungsdruck in der Pflanze zu stark wird und Gefahr vorhanden ist, daß die Interzellularen mit Wasser injiziert werden.

Wir wollen uns jetzt mit dem inneren Bau eines Blumenblattes bekannt machen und auch die günstige Gelegenheit benutzen, um den Leitbündelverlauf und die Leitbündelendigungen in ihm kennenzulernen. Die Petala des Wollkrauts, Verbascum nigrum, gestatten es leicht, die Verzweigung der Leitbündel und deren Endigung zu verfolgen und auch Einblick in den Bau eines zarten Blumenkronblattes zu gewinnen. Die Luft, die dem hellgelben Blumenblatt anhaftet, läßt sich leicht durch Klopfen auf das Deckglas entfernen. Das Blumenblatt zeigt an seiner Ober- und Unterseite eine zarte Epidermis und 2—4 Schichten von Schwammparenchymzellen. Nur

[1]) J. Chalon, Bull. Soc. Bot. de Belgique, T. LXXXVII, 1898, S. 88.
[2]) Vgl. A. de Bary, Vergleichende Anatomie, Leipzig 1877, S. 391.
[3]) G. Haberlandt, Physiol. Pflanzenanatomie, 5. Aufl., 1918, S. 455

zwei Schichten findet man an den Rändern, von denen aus die Dicke des Blattes zunimmt, bis die Vierzahl der Schichten erreicht ist. Die stärksten Leitbündel sowohl, als auch ihre auf die Schraubentracheïden reduzierten feinsten Auszweigungen sind von einer Schicht gestreckter, dünnwandiger Parenchymzellen umscheidet. Diese Parenchymscheiden schließen vor den Bündelenden zusammen. In ihren Zellen ist an dem frisch abgeschnittenen, somit verwundeten Blumenblatt auch Protoplasmaströmung zu beobachten. Die stark verzweigten Schwammparenchymzellen setzen an die Elemente der Parenchymscheide an. Namentlich belehrend ist der Anblick der Leitbündelenden, die einen strahlenförmigen Anschluß der Schwammparenchymzellen an die Scheide zeigen.

Die Blumenkronblätter des Klatschmohns, Papaver Rhoeas, lassen sich auch, nachdem die Luft durch Klopfen auf das Deckglas entfernt wurde, ohne weitere Präparation untersuchen. Hier ist außer der Epidermis der Ober- und Unterseite nur eine Schicht Schwammparenchym vorhanden. Die Leitbündel endigen nirgends frei, sie schließen vielmehr bogenförmig an dem Blattrand zusammen. Sie sind in ihrem ganzen Verlauf von einer einschichtigen Parenchymscheide umgeben. An diese setzen die Schwammparenchymzellen an. Alkoholmaterial zeigt diese Verhältnisse ebenfalls sehr deutlich.

Das Abwerfen der Laubblätter im Herbst[1]) erfolgt durch Vermittlung einer Trennungsschicht, die früher oder später ausgebildet wird und das Gelenk des Blattstiels quer durchsetzt. Ein Periderma schließt weiterhin die Blattnarbe ab. Wir wollen uns den Vorgang bei Aesculus Hippocastanum, der Roßkastanie, während des Blattfalls näher ansehen. Die Untersuchung ist an Alkohol-Material ebensogut wie an frischem anzustellen, so daß man sich von der Jahreszeit unabhängig machen kann. Die Trennungsschicht wie die Korkschicht liegen an der Stelle, die sich äußerlich scharf als Grenze zwischen dem braunen Gewebe der Rinde und dem grünen des Blattstiels kennzeichnet; nach oben trifft diese Grenze den Winkel, den der Blattstiel mit der Achselknospe bildet. Wir schneiden den Blattstiel mit angrenzenden Teilen der Rinde vom Zweig ab und halbieren ihn median. Dann führen wir eine Anzahl zarter Längsschnitte mit dem Rasiermesser aus, wobei wir darauf achten, daß einige von ihnen auch Leitbündel treffen. Auf solchen aus frischem Material hergestellten, in Wasser untersuchten Längsschnitten fällt die Korkschicht schon bei schwacher Vergrößerung als heller, bräunlicher Streifen zwischen den sich stärker bräunenden Zellen der Rinde und des Blattstiels auf. An Alkoholmaterial bleiben die Zellwände in der Rinde und in dem Blattstiel farblos. Die Korkschicht ist namentlich an der Rindenseite deutlich rotbraun. Sie besteht aus 8—10 Zellagen und schließt mit rasch sich verjüngendem Rand an das Periderma des Zweiges an. Ihr Phellogen liegt auf der Stammseite. Diese Korkschicht wird von den Leitbündeln des Blattes durchsetzt. Durch einige Zellschichten von diesem Periderma getrennt läuft innerhalb der rundlichen Zellen des Blattstiels die nur wenige Zelllagen starke Trennungsschicht, an ihrer gelben Färbung und dem reicheren Inhalt ihrer Zellen, die auch kleine Stärkekörner führen, kenntlich. Sie

[1]) S. u. a. E. Lee, Ann. of Bot., Bd. XXV, 1911, S. 51 ff.; dort die frühere Literatur (H. v. Mohl, v. Bretfeld, van Tieghem, Guignard und Tison).

setzt sich auch durch die lebenden Elemente des Leitbündels fort. Die trachealen Elemente der letzteren werden schließlich noch mit Thyllen verstopft. Die Zellen des Blattstiels zeigen sich von Reservestoffen fast vollständig entleert; sie enthalten, wie Jodbehandlung zeigt, nur noch Spuren von Stärke. Ebenso fehlt die Stärke innerhalb der Leitbündel, sowohl im Blatt als auch in der Rinde, während sie in der Rinde im Umkreis der Leitbündel reichlich vertreten ist. Die dünnwandigen Elemente der Leitbündel sind dagegen z. T. mit stark lichtbrechenden Massen erfüllt, die auf Fett und Tannin reagieren; auch gelöste Kohlenhydrate sind oft in beträchtlichen Mengen in den Blättern, die im Begriff waren, abzufallen, festgestellt worden[1]). Werden frische Schnitte in Wasser untersucht, so fängt dieses alsbald an von Äskulin, das aus der Rinde stammt, bläulich zu fluoreszieren. Zahlreiche Zellen des Blattstiels enthalten Kristalldrusen oder auch Einzelkristalle von oxalsaurem Kalk. Mit Methylgrün-Essigsäure behandelte Präparate zeigen in den Zellen des Blattstiels Reste des Zytoplasmaschlauchs, der Zellkerne und Chlorophyllkörner. Die gelben Körner, in welche die Chlorophyllkörner zerfallen, verleihen dem Blatt die herbstliche Färbung[2]). — Das Ablösen des Blattstiels erfolgt innerhalb der Trennungsschicht, deren Zellen anschwellen, sich gegeneinander abrunden und durch Verschleimen der Mittellamellen schließlich aus dem Verband treten; die Leitbündel werden an der entsprechenden Stelle durchrissen. Die Blattnarbe ist von den rundlichen Parenchymzellen bedeckt, die zwischen Trennungsschicht und Korkschicht lagen, und erscheint daher zunächst grünlich. Diese Zellen bräunen sich und trocknen rasch an der Luft ein. In den durch Thyllen schon verstopften Gefäßen tritt stellenweise auch Wundgummi (vgl. S. 320) auf. Die parenchymatischen Elemente der Leitbündel verholzen und verkorken mehr oder weniger an den freigelegten Flächen. Es bleibt entweder bei diesem Abschluß, oder es setzt sich die Bildung der Korkschicht durch die Parenchyme der Leitbündel fort. Selbst die Thyllen der Gefäße können sich an diesem Vorgang beteiligen. So ist in kurzer Zeit eine zusammenhängende Peridermschicht vorhanden, welche die ganze Blattnarbe abschließt. Durch die Tätigkeit dieser Schicht wird nicht allein Kork nach außen, sondern auch etwas Phelloderm nach innen gebildet. Die zwischen den Phellogenzellen befindlichen Gefäße und Siebröhren werden in die Länge gezogen und schließlich durchrissen. Die äußeren Enden der Leitbündel ragen aber, meist 5—7 an der Zahl, aus der schildförmigen Blattnarbe dauernd hervor.

Mit den hier geschilderten Vorgängen stimmen im wesentlichen diejenigen bei dem Blattfall anderer Dikotylen, Gymnospermen und selbst Monokotylen überein. Die Reihenfolge und die Zeit des Auftretens der einzelnen Bildungen innerhalb dieses Vorgangs ist aber Schwankungen unterworfen. In besonderer Weise ausgebildete Trennungsschichten sind auch an der Basis der ihre Blätter abwerfenden Farne vorhanden; die Zellen der Blattnarbe werden dort durch Einlagern bestimmter Stoffe und Anlagerung von Suberinlamellen geschützt[3]).

[1]) Vgl. R. Combes, Assoc. franc. Avanç. Sc. Congrès de Lille, 1910, S. 525 ff.; s. u. a. auch N. Swart, Die Stoffwanderung in ablebenden Blättern, Jena 1914, S. 80 ff. Über das Verhalten des Eiweißes beim herbstlichen Vergilben der Laubblätter vgl. A. Rippel, Biolog. Zentralbl., Bd. XLI, 1921, S. 508 ff.

[2]) Vgl. im übrigen H. Molisch, Sitzber. K. Akad. Wiss. Wien, Math.-Nat. Kl. I, Bd. CXXVII, 1918.

[3]) P. Bäsecke, Bot. Ztg., LXVI. Jahrg., I. Abt., 1908, S. 68, 71.

Ähnliche Vorgänge sind, wenn auch in ihren Folgeerscheinungen stark abgeschwächt, beim Abwerfen der Blättchen eines zusammengesetzten Blattes zu beobachten. — Legt man kräftige Blätter von Gymnocladus canadensis oder von Ailanthus glandulosa in einen feuchten, dunklen Raum, so werfen erstere schon nach 48 Std., letztere etwa am vierten Tage, bei leisester Berührung ihre Blättchen ab. Längsschnitte durch die Ansatzstelle der Blättchen lehren, daß sich an deren Grund eine Trennungsschicht ausgebildet hat. Eine solche Trennungsschicht gelangt auch am Grund des gemeinschaftlichen Blattstiels, etwa am sechsten oder siebenten Tage, zur Ausbildung. Auch die Esche, Fraxinus excelsior, und die Walnuß, Juglans regia, lassen sich zu diesem Versuch verwenden. Das Endblättchen wird bei Juglans nicht abgeworfen.

XVI. Abschnitt.

Vegetationskegel des Stammes. Präparier-Mikroskop. Sonderung der Gewebe.

Anordnung der Zellen. Sichtbarmachen der Zellwände. Scheitelzellen und deren Teilung. Leitbündelverlauf.

Untersuchungsmaterial.

Sproßspitzen von Hippuris vulgaris, oder von Helodea canadensis, oder von Myriophyllum- bzw. Ceratophyllum-Arten, frisch oder in Alkohol. Sproßenden von Evonymus japonica oder von einer anderen Strauch- oder Baum-Art mit dekussierten Blättern, frisch oder in Alkohol.

Sproßenden von Equisetum-Arten.

Wichtigste Reagentien und Farbstoffe.

Glyzerin. — JAVELLEsche Lauge. — Konz. Kalilauge. — Konz. Essigsäure. — Evtl. auch Kaliumazetat. — Bismarckbraun oder Safranin. — FEHLINGsche Lösung. — Vanillin-Salzsäure.

Es soll nunmehr unsere Aufgabe sein, uns an einigen prägnant gewählten Beispielen mit dem Bau der Vegetationspunkte bei den Gefäßpflanzen bekannt zu machen. Wir nehmen als erstes Beispiel eine phanerogame, mit sehr stark entwickeltem, leicht freizulegendem Vegetationskegel versehene Pflanze, nämlich den sog. Tannwedel, Hippuris vulgaris[1]). Wir wählen kräftige Sprosse für die Untersuchung aus. Von diesen schneiden wir die Endknospe etwa 1 cm unter der Stammspitze ab und entfernen von ihr zunächst alle größeren Blätter. Hierauf fassen wir die Knospe, mit der Spitze nach unten, flach zwischen Daumen und Zeigefinger und versuchen, einen medianen Längsschnitt aus ihr zu gewinnen. Zu diesem Zweck muß das Rasiermesser in möglichst senkrechter Lage zwischen den beiden genannten Fingern hindurchgezogen werden. Zunächst halbiert man so die Knospe. Jede Hälfte zerlegt man für sich weiter in derselben Weise. Dann wählt man den der Mitte nächsten Schnitt aus, halbiert ihn wieder, falls er noch nicht dünn genug erscheint, und fährt so fort, bis man einen hinlänglich zarten Schnitt erhalten hat. Das wird zum erstenmal vielleicht mißlingen, doch im allgemeinen nach einigem Üben keine zu großen Schwierigkeiten mehr bereiten. Wer übrigens die im Anfang sich bietenden Schwierigkeiten nicht zu überwinden vermag, kann noch in anderer Weise zum Ziel kommen. Statt zwischen die Finger, faßt er das Objekt zwischen zwei flache Holundermark-

[1]) C. SANIO, Bot. Ztg., XXII. Jahrg., 1864, S. 223, Anm. **; 1865, S. 184; A. DE BARY, Vergl. Anat., 1877, S. 9; L. KNY, Wandtafeln, III. Abt., 1879, S. 99.

stückchen und zieht nun das Messer zwischen diesen hindurch. Das richtige Treffen des Objekts ist dann freilich weit mehr dem Zufall anheimgestellt. Objekte, die, wie das vorliegende, eine beträchtliche Dicke und Festigkeit besitzen, lassen sich auch zwischen die Ränder zweier Holundermarkstückchen einklemmen und mit diesen schneiden.

Unter den hergestellten Schnitten wählen wir nun einen genau medianen für die Untersuchung aus; wir erkennen ihn an dem schlanken, regelmäßig ausgebildeten Vegetationskegel (Fig. 157). Dieser zeigt

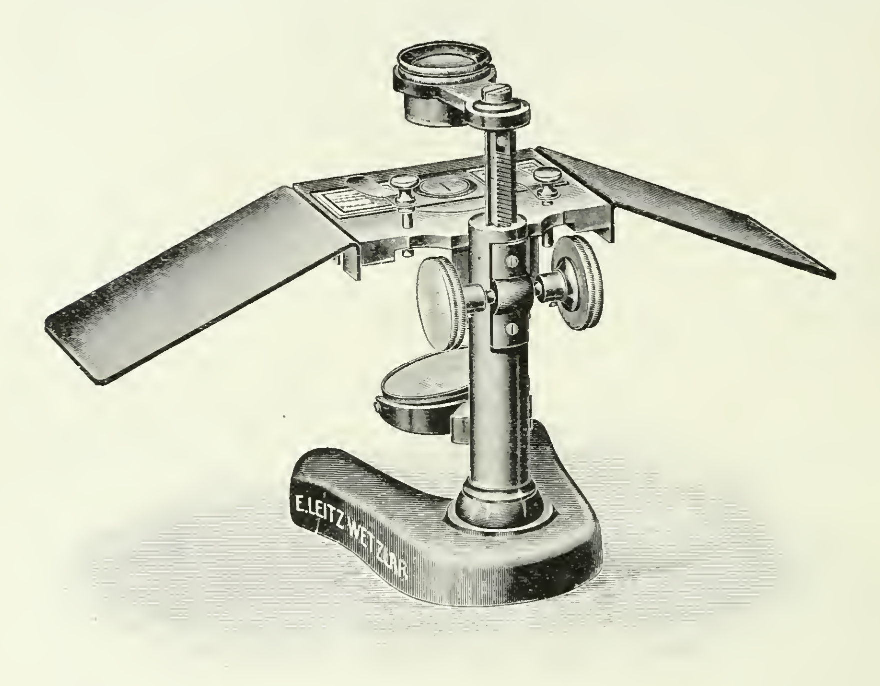


Fig. 155. Einfaches Präpariermikroskop. Lupen-Mikroskop Nr. 208 von *Leitz*. ½ nat. Größe.

seitliche Höcker, welche Blattanlagen (*f*) sind und mit der Entfernung vom Scheitel an Größe zunehmen. An den Ansatzstellen dieser Anlagen kennzeichnen sich die Stengelknoten bald als quere Gewebestreifen. — Vielfach werden in den Schnitten einzelne Blattanlagen sich über andere, auch wohl über den Vegetationskegel, geschoben haben. Sie stören die Beobachtung und sind daher zu entfernen, was mit Hilfe eines Präpariermikroskops leicht geschehen kann. Wir nehmen daher ein Präpariermikroskop oder ein bildumkehrendes Okular (vgl. S. 20) zur Hand und suchen mit dessen Hilfe die Operation auszuführen.

An dem als einfaches Lupenmikroskop bezeichneten Präpariermikroskop von *Leitz* (Nr. 208) befindet sich, wie unsere Fig. 155 zeigt, über dem Objekttisch aus Glas ein horizontaler Arm, der durch Zahn und Trieb bewegt wird; er trägt eine der beiden dem Instrument beigefügten Lupen (S. 20), in diesem Fall die zehnfach ver-

größernde, schwächere. Die beiden metallenen, mit Leder überzogenen Präparierbacken dienen zum Auflegen der Hände.

Das *Zeiss*sche Präpariermikroskop (Stativ XI, Nr. 12 53 10 des Katalogs Mikro 184) stellt ein monokulares, bildaufrichtendes Prismenmikroskop (vgl. dazu auch S. 21) dar (Fig. 156), das insbesondere dem Objektiv a^* mit seinem großen Sehfeld und seiner veränderlichen Vergrößerung angepaßt ist. Das Stativ ist so konstruiert, daß es sehr große Objektabstände vom Objekttisch aus zuläßt. Die Einstellung

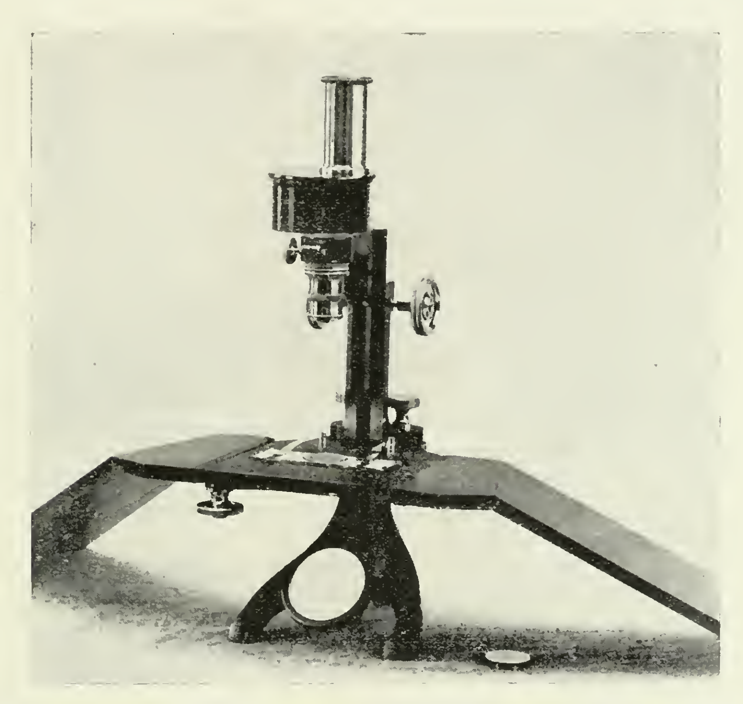


Fig. 156. Bildaufrichtendes Präpariermikroskop, Stativ XI, von *C. Zeiss*, ca. 1/4 nat. Gr.

kann durch Zahn und Trieb geschehen, oder durch Verschieben eines Schlittens, der vermittels einer Schraube mit Hebel in der gewünschten Höhe festzuklemmen ist. Der Tubus ist mit einem bildaufrichtenden Porroschen Prismensystem versehen. Er trägt unten das Gewinde. Wird, was zu empfehlen ist, ein Revolver verwendet, so ist die normale Tubuslänge von 160 mm erreicht. Im andern Fall muß ein dem Stativ stets beigegebener Zwischenring von 15 mm Höhe angeschraubt werden, womit die Objektive auch ohne Revolver bei normaler Tubuslänge benutzt werden können. An dem Stativ können die schwachen und mittelstarken Objektive bis zu Objektiv *D* benutzt werden, außerdem ein besonders schwaches System 11 20 00 von 55 mm Brennweite mit sehr großem Objektabstand. Die *Zeiss*schen Zeichenapparate lassen sich ohne weiteres auch an diesem Stativ verwenden. — Vielfach bringt es Vorteil, statt in dem durch den Spiegel grell beleuchteten, in einem weniger blendenden Gesichtsfeld zu prä-

parieren. Man erreicht leicht eine angenehme milde Beleuchtung durch Auflegen eines Scheibchens von satiniertem Papier auf die Spiegelfläche. Manche Optiker bringen auch gleich in die Spiegelfassung einerseits einen Planspiegel, andererseits eine Milchglasplatte, die weiße, milde Beleuchtung gibt. Wird der Spiegel ganz abgestellt oder mit einem Scheibchen von schwarzem, mattem Papier bedeckt, so präpariert man auf dunklem Grund. Das Präparieren auf dunklem Grund ist für größere Objekte von Vorteil. Das Objekt erhält dann nur Oberlicht.

Um mit dem Kompositum zu präparieren, setzt man dem Okular 2 das bildumkehrende Prisma auf, oder man bedient sich des bildumkehrenden Okulars (vgl. S. 21). Man kann sich endlich auch gewöhnen, mit dem Kompositum direkt zu präparieren, was freilich im Anfang Schwierigkeiten bereitet. Dann gilt es eben, die Bewegung umgekehrt, als man sie im Gesichtsfeld des Instruments sieht, auszuführen. — Von Vorteil ist es, auch beim Präparieren mit dem Kompositum sich zwei entsprechend große Holzblöcke anfertigen zu lassen, die man zu den beiden Seiten des Objekttisches anbringt, um auf sie die Hände in bequemer Weise stützen zu können.

Präpariert wird nach erfolgter Einstellung des noch unbedeckten oder vom Deckglas wieder befreiten Objekts mit den S. 43 genannten, in Haltern befestigten Nadeln, während die Hände auf den Präparierbacken ruhen. Man bringt zunächst die beiden Nadelspitzen in die Achse des Instruments und sucht sie dann gleichzeitig im Gesichtsfeld zu erblicken. Ist dies gelungen, so beginnt man mit den zum Präparieren nötigen kleinen Bewegungen, die entsprechend vergrößert erscheinen und demgemäß einige Übung verlangen, bevor man sie ganz zu beherrschen lernt.

Wünscht man von Vegetationspunkten sehr zarte Schnitte für eingehende Untersuchungen zu gewinnen, so wird man zu einem Mikrotom seine Zuflucht nehmen müssen. Da gilt es, entsprechend fixiertes und gehärtetes Material zu verwenden, es in kunstgerechter Weise einzubetten, in dem Einbettungsmittel entsprechend zu richten und in Serienschnitte zu zerlegen (s. S. 59 ff.). Im allgemeinen wird es sich empfehlen, Alkohol-Material für die Untersuchung in Anwendung zu bringen und dies in Paraffin einzubetten. Für die Färbung der Schnitte würden die gleich anzugebenden Farbstoffe besonders in Betracht kommen.

Der schlanke Vegetationskegel von Hippuris vulgaris bildet die Blätter in vielgliedrigen Wirteln. Schon beim zweitjüngsten Wirtel beginnen die Stengelknoten sich als quere, dichtere Gewebeplatten zu kennzeichnen, über und unter denen in der Rinde des Stengels Luftgänge auftreten. Diese Luftgänge, die von einer Knotenscheibe bis zur anderen reichen, werden in dem Maße größer, als der Stengel an Volumen zunimmt. Die Internodien strecken sich sehr rasch und gleichmäßig, und im selben Verhältnis wächst auch ihre Dicke. Etwa unter dem viertjüngsten Blattwirtel beginnt die Ausbildung der Gefäßtracheïden im Stengel. Man sieht sie sehr schön nach Zusatz von ein wenig Kalilauge. Diese Gefäßtracheïden treten in der Längsachse des Stengels auf. Sie gehören einem Leitbündel an, das akropetal fortwächst und mit einzelnen Ringtracheïden nach oben abschließt. Erst im zehnten bis zwölften Knoten werden jene Gefäß-

tracheïden sichtbar, die den Blättern angehören. Sie setzen an die Gefäßtracheïden des Stammbündels an. Wir haben es somit bei Hippuris mit einem einzigen, dem Stamm angehörigen, daher „stammeigenen" Leitbündel zu tun, an welches die den Blättern angehörigen, daher „blatteigenen" Leitbündel anschließen. — In den Achseln der Blätter beginnen in geringer Entfernung vom Scheitel sich kleine flache Höcker zu erheben, welche die Anlagen fächerförmiger, von einer einfachen, kurzen Stielzelle getragener Schuppen sind. Nur bei den in Blütenbildung begriffenen Exemplaren treten uns hier auch Anlagen von Achselknospen entgegen.

Um uns mit dem Bau des Vegetationskegels eingehender bekannt zu machen, wählen wir einen schönen, medianen Längsschnitt aus und behandeln ihn mit Javellescher Lauge (Eau de Javelle)[1]). Alsbald beginnen Gasblasen aus dem Präparat zu entweichen. Die Einwirkung hat je nach Umständen kürzer oder länger zu dauern. Die schönsten Bilder erhält man an Schnitten aus Alkoholmaterial. Die Javellesche Lauge löst den plasmatischen Zellinhalt auf, während die Zellwände scharf hervortreten. Die Zellenzüge sind alsdann leicht zu verfolgen. Sobald der nötige Grad der Durchsichtigkeit erreicht ist, wäscht man das Präparat mit Wasser aus. Ist der Schnitt zu hell geworden, so läßt sich dem Übelstand durch Zusatz von Alkohol oder von Alaunlösung abhelfen. Sollten etwa abgeschiedene Kalkkörner dem Präparat anhaften, so kann man sie mit verd. Essigsäure entfernen. Die ausgewaschenen Präparate lassen sich dauernd in Glyzerin aufbewahren. Doch müssen sie zunächst in sehr verd. Glyzerin gelegt werden, das man an der Luft sich langsam konzentrieren läßt. Unter Umständen gewinnt das Präparat noch an Schärfe durch schwache Färbung seiner Zellwände mit Bismarckbraun oder Safranin. — Wie in diesem Fall, so läßt sich die Javellesche Lauge auch dann anwenden, wenn es gilt, den Zellinhalt zu lösen und die Zellwände hervortreten zu lassen (s. z. B. S. 338). Kutinisierte Membranen werden von der Javelleschen Lauge nach einiger Zeit angegriffen. Sind die Zellen sehr reich an Fett, so muß die Einwirkung der Lauge längere Zeit andauern, ebenso wenn die Zellen viel Stärke enthalten. Steht die Javellesche Lauge nicht zur Verfügung, so behandle man den Schnitt mit konz. Kalilauge, wasche ihn aus und lege ihn in konz. Essigsäure. Nach einiger Zeit untersuche man ihn in dieser Essigsäure oder in Kaliumazetat. — Es ist von Vorteil, den Schnitt nicht direkt auf den Objektträger, sondern auf ein auf diesem befindliches Deckglas zu legen und mit einem zweiten Deckglas zu bedecken. So ist man in der Lage, den Schnitt nach Wunsch zugleich mit den Deckgläsern umzukehren und ihn von beiden Seiten zu betrachten; doch muß dafür gesorgt werden, daß keine Flüssigkeit zwischen das untere Deckglas und den Objektträger gelange. Auch kann man sich zu diesem Zweck durchbohrter Objektträger bedienen, wie sie von den verschiedenen Werkstätten für mikroskopische Bedarfsgegenstände zu beziehen sind. Die Öffnung in solchen Objektträgern pflegt mit einem Deckglas verschlossen zu sein, das in den Objektträger etwas eingesenkt ist. Auf dieses Deckglas kommt der zu behandelnde Gegenstand

[1]) Vgl. F. Noll, Bot. Zentralbl., Bd. XXI, 1885, S. 377.

zu liegen und wird mit einem zweiten Deckglas bedeckt. Man kehrt nun den ganzen Objektträger um und kann so das Bild, das man von der einen Fläche des Objekts gewann, durch Betrachtung der anderen Fläche ergänzen.

Um gute Färbungen der Zellwände in den hier in Betracht kommenden Präparaten zu erlangen, empfiehlt sich in allen Fällen eine Vorbehandlung mit Javellescher Lauge. Wohl die besten Ergebnisse erzielt man[1]), wenn man auf die Schnitte zuerst Javellesche Lauge, dann Kalilauge einwirken läßt. Die Schnitte haben in der Javelleschen Lauge zu verweilen, bis sie keinen trüben Inhalt mehr zu führen scheinen. Man stellt unter dem Mikroskop fest, daß aller Zellinhalt bis auf die wenig sichtbaren Zellkerne aus ihnen verschwunden ist. Ist das der Fall, so führt man sie nunmehr einzeln für einige Min. in Kalilauge über. Dann wäscht man sie gut mit Wasser aus und läßt sie längere Zeit in wiederholt gewechseltem Wasser liegen, um jede Spur von Kalilauge zu entfernen. Dann färbt man 1 Min. lang in Bismarckbraun. Besser noch ist es, da sich das Bismarckbraun in den Präparaten nicht lange hält, die wie zuvor behandelten Schnitte für 1 oder 2 Min. in eine verd. Tanninlösung zu übertragen, dann möglichst rasch in eine sehr verd. Eisenchloridlösung einzutauchen und sofort in Wasser auszuwaschen. Die Zellwände werden in solcher Weise schwarz gefärbt. Die Präparate lassen sich in Glyzerin oder Glyzerin-Gelatine aufbewahren, oder man entwässert die Schnitte mit Alkohol, hellt sie mit Nelkenöl auf und schließt in Kanadabalsam ein. Von anderer Seite[2]) ist auch eine Färbung mit konz., wässr. Lösung von „Schwarzbraun", empfohlen worden und so auch, aus gleichem Grund, eine mit wässr. Kernschwarz. Damit die Färbung mit letzterem gut gelinge, muß das vorausgegangene Auswaschen der Schnitte mit solchem Wasser vorgenommen werden, das mit etwas Essigsäure angesäuert ist. — Handelt es sich um zarte Mikrotomschnitte, so kann man darauf verzichten, den Zellinhalt zu entfernen, und gleich das eben erwähnte, nur etwas abgeänderte Tanninverfahren mit Vorteil zur Anwendung bringen[3]). Auch kann man die Schnitte mit Eisen-Hämatoxylin nach Heidenhain färben (vgl. S. 88), dann für 20—30 Minuten in Eosin-Nelkenöl überführen, wonach Plasma und Kerne blauschwarz, die Zellwände rot gefärbt hervortreten. Nach sorgfältigem Auswaschen des Nelkenöls mit Xylol lassen sich die Präparate in Kanadabalsam einschließen[4]).

Wir erkennen nunmehr bei stärkerer Vergrößerung (vgl. Fig. 157) eine ganz bestimmte Anordnung der Zellen im „Meristem" des Vegetationskegels. Es sind mantelförmige Zellschichten, deren Scheidewände eine Schar konfokaler Parabeln bilden. Die äußerste Zellschicht, die den Vegetationskegel deckt und als einfache Zellschicht auch über die Blattanlagen läuft, ist das die Epidermis bildende „Dermatogen" (*d*). Unter diesem lassen sich noch vier, ja selbst mehr undifferenzierte Gewebeschichten (Meristemschichten) über den Scheitel verfolgen, die dem „Periblem" (*pr*) angehören, aus dem die primäre Rinde des Stengels hervorgeht. Endlich finden wir einen

[1]) Ph. van Thieghem u. H. Douliot, Ann. des sc. nat., Bot., 7. sér., T. VIII, 1888. S. 4.
[2]) A. Lemaire, Bull. de la soc. bot. de France, Bd. XLI, 1894, S. 88.
[3]) Vgl. darüber, wie über andere Färbemethoden, Reg. IV Zellmembran.
[4]) Nach E. Tiegs, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LII, 1913, S. 628.

zentralen Zylinder, der kegelförmig verjüngt nach oben mit meist einer Zelle abschließt und aus dem, wie tiefer am Schnitt zu ersehen ist, der Zentralzylinder des Stengels sich bildet. Dieses Gewebe bezeichnen wir als „Plerom" (*pl*). — Epidermis, primäre Rinde und Zentralzylinder haben somit bei Hippuris ihre eigenen „Histogene". Nicht in allen Vegetationskegeln der Phanerogamen sind aber die Histogene so scharf wie in diesem Fall voneinander gesondert. Bei vielen Gymnospermen (Abietineen, Cycadeen) ist eine scharfe Trennung zwischen Dermatogen und Periblem nicht vorhanden und oft Periblem von Plerom überhaupt nicht deutlich geschieden. Bei den Angiospermen ist das Dermatogen stets scharf abgesetzt, doch eine Grenze zwischen Periblem und Plerom häufig nicht vorhanden. Es handelt sich somit überhaupt nicht um eine Verschiedenheit der Gewebe, die sich bis in das Meristem des Vegetationskegels fortsetzen sollte, vielmehr um mechanische Anordnungen der Zellwände, welche dem jungen Gewebe die nötige Festigkeit verleihen. Deutlich tritt uns in dieser Anordnung das rechtwinklige Schneiden der antiklin, d. h. senkrecht die Oberfläche treffenden und der periklin, d. h. parallel zu dieser laufenden Wände entgegen[1]). Bei alledem können wir die Bezeichnungen Dermatogen, Periblem und Plerom beibehalten, weil die Anordnungen der Zellschichten, wie wir sie bei Hippuris beobachtet, häufig in den Vegetationskegeln der Phanerogamen wiederkehren, und diese Termini somit bequem für die Bezeichnung bestimmter Regionen des Vegetationskegels benutzt werden können. — Für Anlage der Blätter sehen wir in der äußersten Schicht des Periblems zunächst perikline Teilungen eintreten (bei *f*), denen antikline folgen. Das Dermatogen der sich vorwölbenden Stelle bleibt einschichtig, es teilt sich nur durch antikline Wände[2]).

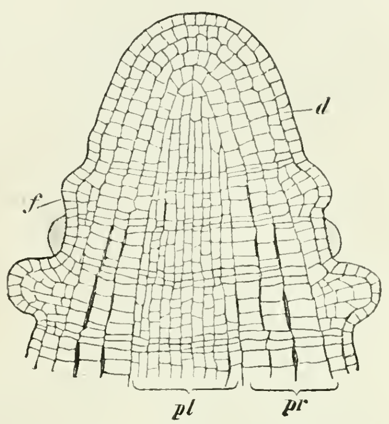


Fig. 157. Längsschnitt durch den Vegetationskegel von Hippuris vulgaris. *d* Dermatogen; *pr* Periblem; *pl* Plerom; *f* Blattanlage. Vergr. 240.

Falls Hippuris nicht zur Verfügung steht, kann die Wasserpest, Helodea canadensis, mit sehr ähnlichem Vegetationskegel ihn ersetzen. Ganz entsprechend verhalten sich auch die Tausendblatt- (Myriophyllum) und Hornblatt- (Ceratophyllum)Arten. Alle diese Objekte lassen sich auch den Winter über in Aquarien halten. Die Untersuchung der Vegetationskegel ist an ihnen besonders leicht. Man bringt eine von der Pflanze abgetrennte Knospe in Wasser unter Deckglas und drückt mit dem flachen Finger-

---

[1]) J. Sachs, Arb. d. bot. Inst. z. Würzburg, Bd. II, 1882, S. 46 u. 185. Vgl. auch H. Kniep, Ann. d. sc. nat., Bot., 8. sér., T. XIX, 1904, S. 293 ff., der u. a. sicherstellte, daß die Endodermis aus dem Periblem hervorgeht. Dort weitere Literatur.

[2]) Vgl. zum vorigen auch Fr. Herrig, Flora, Bd. CVII, 1915, S. 327 ff.; s. a. O. Schüepp, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LVII, 1917, S. 17 ff.

nagel auf dieses. Hierbei trennen sich die jüngsten Internodien der Knospe von den älteren und treten samt Vegetationskegel frei hervor.

An den Enden der Blattanlagen fallen mehrzellige Haarbildungen mit stark lichtbrechenden kugelförmigen Inhaltskörpern auf. Fügt man kalte Fehlingsche Lösung hinzu, so färben sich diese Kugeln rotbraun, mit Vanillin-Salzsäure (s. Reg. IV) purpurrot. Nach mehrstündiger Einwirkung von Methylgrün in sehr verdünnter Lösung zeigen sich die Kugeln an der Spitze der Haare, wie totes Plasma, grün, jenes der Basalzellen, wie lebendes Plasma, violett gefärbt. Diese und ähnliche Reaktionen, z. B. in Ruzika-Mischung (Reg. IV), ferner ihr Koagulieren bei Hitze und bei Einwirkung von 20-proz. Alkohol weisen darauf hin, daß die Kugeln wesentlich aus Eiweiß mit Gerbstoff-Beimischungen bestehen. Dabei stellen die Kugeln der Basalzellen in der Hauptsache labiles, die Kugeln der älteren Zellen an der Spitze koaguliertes, inaktiv gewordenes Eiweiß dar. Die für diese Stoffe von Raciborski eingeführte Bezeichnung „Myriophyllin" (s. Reg. IV) entspricht nach alledem keinem chemischen Individuum [1]).

Wir untersuchen hierauf einen jener flachen Vegetationskegel, wie sie den meisten Phanerogamen zukommen. Als Beispiel mag ein in allen Gärten kultivierter Zierstrauch, Evonymus japonica [2]), dienen, den man zu jeder Jahreszeit untersuchen kann und dessen Knospen sich sehr gut schneiden lassen. Wir stellen zunächst Querschnitte her, um eine Scheitelansicht des Vegetationskegels zu gewinnen, und behandeln die Schnitte hier ebenso, wie wir es bei Hippuris getan. Bei schwacher Vergrößerung erkennen wir den Vegetationskegel als flachen Höcker, umgeben von den jüngsten Blattanlagen. Diese stehen in zweigliedrigen, alternierenden Wirteln, also dekussiert. Jedes neue Blattpaar erhebt sich nach entsprechender Größenzunahme des Vegetationskegels in den zwischen den beiden vorausgehenden Blättern vorhandenen Lücken (Fig. 158 *A*). Vergrößern wir jetzt das Objekt, so gelingt es uns hier leicht, die Anordnung der Zellen am Scheitel zu verfolgen (Fig. 158 *B*). — Querschnitte, dicht unter dem Scheitel geführt, zeigen uns zunächst die Differenzierung des „Prokambiums", das die Leitbündel bilden soll, und zwar in Gestalt einer rhombischen Figur mit etwas vortretenden, abgerundeten Kanten. Das Prokambium besteht aus dünnwandigen, engen, radial angeordneten Zellen. An den Kanten der von ihm gebildeten Figur beginnt die Ausbildung der Elemente des Leitbündels: Vasalprimanen an der inneren, Kribralprimanen an der äußeren Seite. Die Prokambiumzone öffnet sich an den Stellen eintretender Blattleitbündel, um diese aufzunehmen. In den Achseln der jungen Blätter sieht man die Anlagen je einer Achselknospe. — Einen medianen Längsschnitt bei schwacher Vergrößerung führt unsere Figur 158 *C* vor. Der flache Vegetationskegel, die an Größe zunehmenden Blattanlagen, die Achselknospen (*g*), die Differenzierung des Marks (*m*), der Prokambiumzone (*pc*), der den Blättern und dem Stamm gemeinsamen Leitbündel [der sog. Blattspuren (*pf*)] und der primären Rinde (*c*) sind an ihm zu

[1]) Nach E. Janson, Flora, Bd. CX, 1918, S. 265.

[2]) J. Hanstein, Die Scheitelzellgruppe im Vegetationspunkt der Phanerogamen, 1869, S. 9; E. Warming, Rech. sur la ramification des Phanérogames etc., 1872.

sehen. Mark und Rinde führen große Mengen von Kristalldrusen aus Kalziumoxalat. An frisch in Wasser untersuchten Schnitten erscheinen Mark und Rinde grünlich, während die Prokambiumzone sich hell zeichnet. — Um die Anordnung der Zellen am Vegetationskegel zu verfolgen, wenden wir wieder entsprechende Reagentien (wie JAVELLEsche Lauge) an. Wir finden zu äußerst am Vegetationskegel das einschichtige Dermatogen (Fig. 158 *D*, *d*); dar-

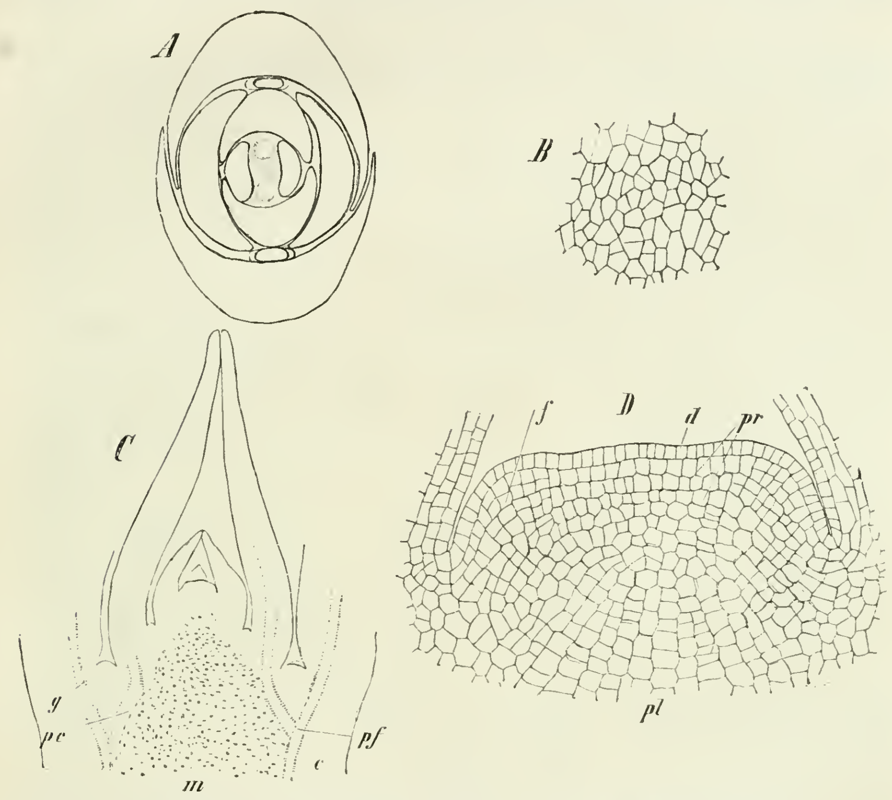


Fig. 158. Stammspitze von Evonymus japonica. *A* seine Scheitelansicht, Vergr. 12. *B* Scheitelansicht des Vegetationskegels, Vergr. 240. *C* Medianer Längsschnitt durch die Stammspitze, Vergr. 28. *D* Medianer Längsschnitt durch den Vegetationskegel, Vergr. 240. *d* Dermatogen, *pr* Periblem, *pl* Plerom, *f* Blattanlage, *g* Knospenanlage, *pf* Blattspuren, *pc* Prokambiumzone, *m* Mark, *c* primäre Rinde.

unter drei Mantelschichten, die wir als Periblem zu bezeichnen haben (*pr*), und dann das nicht überall scharf gegen das Periblem abgegrenzte Plerom (*pl*). Der Vegetationskegel erscheint zwischen zwei fortgeschritteneren Blatthöckern sehr schmal; so bekommt man ihn gewöhnlich zu sehen. Dagegen muß man oft lange schneiden, bevor man die ersten Anlagen von Blättern antrifft. Ist dies gelungen, so zeigt sich das Bild wie in der beigefügten Figur 158 *D*. Der Vegetationskegel erscheint dann viel breiter; die Histogene lassen sich besser in ihm verfolgen. Die Bildung der Blätter wird eingeleitet durch perikline Teilungen in den beiden äußersten Periblemschichten

(bei *f*); das Dermatogen bleibt einschichtig. — Ebensolche Teilungen wie für die Anlage der Blätter finden in der Achsel des drittjüngsten Blattpaares zur Bildung der Achselknospen statt; der Vorgang wird auch durch perikline Teilungen in den hypodermalen Zellschichten eingeleitet. Bei der Achselsproßanlage ist das Plerom mitbeteiligt[1]).

An Stelle von Evonymus könnten treibende Sprosse des spanischen Flieders, Syringa. und der meisten anderen Sträucher und Bäume mit dekussierter Blattstellung treten.

Schließlich wollen wir auch noch eine mit Scheitelzelle wachsende Gefäßkryptogame untersuchen und wählen als günstigstes Objekt den Ackerschachtelhalm, Equisetum arvense[2]). Hier ist es verhältnismäßig leicht, die Scheitelzelle zur Ansicht zu bringen. In Entwicklung begriffene Sprosse werden frisch oder an Alkohol-Material untersucht. Wir tragen ein etwa 10 mm langes Stück vom Gipfel des Sprosses ab und schneiden es, wie in früheren Fällen, mit dem Scheitel nach unten gekehrt zwischen den Fingern. Unter den erhaltenen Längsschnitten suchen wir einen solchen aus, der den konischen Vegetationskegel unverletzt zeigt. Um in die Anordnung der Zellen dieses Kegels Einblick zu bekommen, müssen wir ihn meist noch etwas durchsichtiger machen, was auch hier am besten mit Javellescher Lauge zu bewerkstelligen ist, aber auch durch Zusatz von ein wenig Kalilauge erzielt werden kann. Sollte diese zu stark eingewirkt und den Vegetationskegel bis zum Unkenntlichwerden der Zellwände aufgehellt haben, so helfen wir dem durch einen entsprechenden Zusatz von Wasser ab. Bei frischen Schnitten haben wir die Anwendung jedes wasserentziehenden Mittels zu vermeiden, weil sonst der Vegetationskegel schrumpft. Schnitte aus Alkohol-Material können hingegen in Glyzerin gelegt werden, doch direkt, nicht nach vorausgehendem Aufenthalt in Wasser. Die mit Javellescher Lauge behandelten Schnitte dürfen nicht gleich in konz. Glyzerin gelangen, müssen vielmehr in sehr verd. Glyzerin kommen, das man durch Stehen an der Luft sich konzentrieren läßt. Die mit Kalilauge durchsichtig gemachten Schnitte können mit Essigsäure neutralisiert und in Kaliumazetat aufbewahrt werden. Da es hier ganz besonders wichtig ist, den Schnitt abwechselnd von seinen beiden Seiten betrachten zu können, so legen wir ihn, wie wir es bereits mit dem Vegetationskegel von Hippuris (S. 350) getan, zwischen zwei Deckgläser.

Ist der Vegetationskegel in günstiger Richtung getroffen worden, so zeigt sich dessen dreiseitig pyramidale (dreiflächig zugespitzte), mit konvexer Grundfläche versehene Scheitelzelle (Fig. 159 *t*) in Gestalt eines Keils, dessen Spitze in das Gewebe des Vegetationskegels eingesenkt ist, und dessen Grundfläche sich frei nach außen vorwölbt. Die Scheitelzelle teilt sich durch Scheidewände, die den vorhandenen Seitenflächen parallel sind, in einer Schraubenlinie aufeinanderfolgen und in drei geraden Reihen angeordnete Segmente bilden. Diese Segmente (*S*) sind in Figur 159 im Profil zu sehen. Sie teilen sich in bestimmter Weise weiter und bauen so allmählich den Körper der Pflanze auf. In einiger Entfernung von der

---

[1]) Fr. Herrig, l. c., 1915.

[2]) Vgl. C. Cramer, Pflanzenphys. Unters. v. Nägeli, H. 3, 1855, S. 21; M. Reess, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. VI, 1867—68, S. 209; J. Sachs, Lehrb., 4. Aufl., 1874, S. 393, und K. Goebel, Grundzüge der Systematik u. spez. Pflanzenmorphologie, 1882, S. 291; A. de Bary, Vergleichende Anatomie, 1877, S. 20.

Scheitelzelle erhebt sich aus dem Vegetationskegel ein Wall, der an seinem Rand mit keilförmigen Initialen wächst. Einzelne Stellen dieses Randes werden später in ihrer Entwicklung bevorzugt und bilden die freien Blattzipfel des im unteren Teil verwachsenblättrigen Blattwirtels. Je weiter von der Scheitelzelle entfernt, um so größer werden die Blattwirtelanlagen, gleichzeitig schreitet die Differenzierung der inneren Gewebe des Stammes, vornehmlich die Trennung in dichtere, kleinzelligere, niedrige Knoten und in weniger dichte, gestrecktzellige, lange Internodien fort (Fig. 160).

Jedem Teilungsschritt der Scheitelzelle geht eine entsprechende Zunahme ihrer Größe voraus. Die Scheitelzelle behält stets ihre dreiseitig-pyramidale Gestalt. Die Segmente sind dreiseitige Tafeln. Sie werden von zwei annähernd parallelen, dreiseitigen Hauptwänden (*p*) begrenzt, nämlich der oberen Wand, die das Segment von der Scheitelzelle abtrennt, der scheitelsichtigen oder akroskopen Hauptwand, und der unteren Wand, die es von dem viel älteren, unter ihm liegenden Segment sondert, der grundsichtigen oder basiskopen Hauptwand. Die vierseitige, gekrümmte „Außenwand" des Segments nimmt die Oberfläche des Vegetationskegels ein. Die beiden vierseitigen Seitenwände, von Teilen der Hauptwände älterer Segmente gebildet, treffen unter einem Winkel von annähernd 120° im Mittelpunkt des Vegetationskegels zusammen und trennen somit jedes Segment von den ihm seitlich angrenzenden, älteren Segmenten. Jedes Segment teilt sich zunächst, wie an dem Längsschnitt zu sehen, durch eine „Halbierungswand" (*m*), die den Hauptwänden parallel ist und somit das Segment in zwei übereinanderliegende, gleich gestaltete, dreiseitige Tafeln zerlegt. Jede Segmenthälfte wird hierauf durch einen weiteren Teilungsschritt in zwei annähernd gleiche, nebeneinanderliegende Hälften zerlegt, und zwar durch eine Wand, die senkrecht gegen die Hauptwände und die Halbierungswand gerichtet ist und annähernd radialen Verlauf zeigt, doch ohne den Mittelpunkt des Vegetationskegels vollständig zu erreichen. Diese Wand, die Sextantenwand genannt, ist im Längsschnitt nur in einem Teil ihres Verlaufs zu sehen und schwer als solche zu erkennen. Jedes Segment besteht nunmehr aus vier Zellen, in denen weiterhin zu den Haupt-

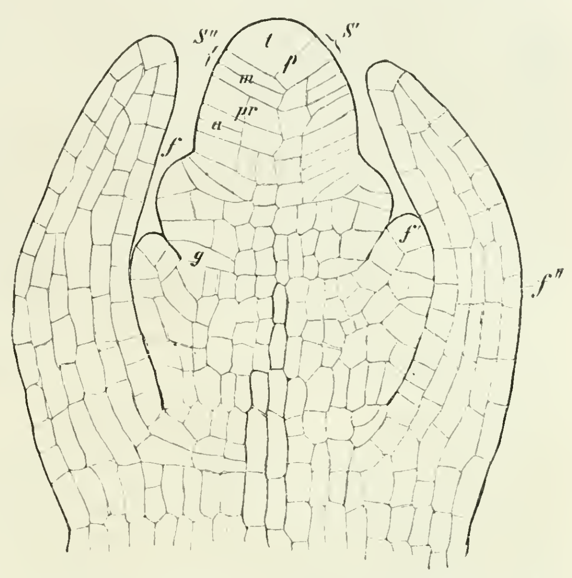


Fig. 159. Längsschnitt durch den Vegetationskegel eines vegetativen Hauptsprosses von Equisetum arvense, *t* Scheitelzelle, S' jüngstes, *S''* nächst älteres Segment, *p* Hauptwände, *m* Halbierungswand, *pr* spätere perikline, *a* antikline Wände, *f* erster, *f'* zweiter, *f''* dritter Blattwirtel, *g* Initialzelle einer Achselknospe. Vergr. 240.

wänden senkrechte (*a*) und ihnen parallele (*pr*) Scheidewände abwechselnd, mit größerer oder geringerer Regelmäßigkeit auftreten. So wird der Vegetationskegel von dünnwandigen, gleichförmigen Zellen aufgebaut, deren Scheidewände wir, soweit sie die Oberfläche des Vegetationskegels annähernd senkrecht treffen, als antiklin und als radial, soweit sie der Oberfläche gleich gerichtet sind, als periklin unterscheiden. Von den Wänden, die wir in ihrem Verlauf verfolgt haben, wären somit die Hauptwände, die Halbierungswände und die Sextantenwände antiklin, die mit *pr* bezeichnete Wand periklin gerichtet. Die Antiklinen und Periklinen schneiden sich unter annähernd rechten Winkeln und bilden somit ein System orthogonaler Trajektorien.

Bei solchen Arbeiten wie die vorliegende, wo es gilt, nach Flächenbildern ziemlich komplizierte körperliche Rekonstruktionen vorzunehmen, sind Modelle, die man während der Beobachtung ausführt, oft von großem Nutzen. Diese müssen, falls sie dem Gegenstand wirklich entsprechen, sich in Lagen bringen lassen, die einem jeden Flächenbild des Objekts entsprechen. Sie bilden somit die sicherste Kontrolle für die Richtigkeit der aus der Beobachtung gezogenen Schlüsse. Derartige Modelle, welche die einzelnen Zellen und ihre Teilungsprodukte wiedergeben, sind am besten aus Wachsplatten herzustellen. Solche Wachsplatten erhält man aber leicht, wenn man geschmolzenes Wachs, zu dem etwas Terpentin zugesetzt worden ist[1]), oder Zerasin mit Wachs (2 : 1) gemischt[2]), auf siedend heißes Wasser gießt. Sobald das Wachs zu erstarren beginnt, wird es am Rand von den Wänden der Schale abgeschnitten, weil es sich dort sonst zu größerer Dicke sammelt. Mit Hilfe dieser Methode lassen sich nach Bedürfnis auch dünnere Wachsplatten herstellen, die aber leicht brüchig werden.

Das ganze noch nicht differenzierte Gewebe des Vegetationskegels nennen wir auch hier Meristem, und in diesem Fall, wo alles Gewebe des Vegetationskegels sich auf die eine Scheitelzelle zurückführen läßt, wäre diese als Initialzelle des ganzen Meristems zu bezeichnen. — In einiger Entfernung von der Scheitelzelle beginnt die Oberfläche des Vegetationskegels sich ringförmig hervorzuwölben (*f*). Es ist das die erste Anlage eines Blattwirtels. Zellen des Randes vergrößern sich hierbei, teilen sich durch entsprechend geneigte Scheidewände (*f*), und so erhebt sich ein Wall, dessen Randzellen als Initialzellen fungieren. Sie haben eine keilförmige Gestalt und teilen sich, freilich ohne durchgehende Regelmäßigkeit, meist durch abwechselnd nach innen und außen geneigte Wände (*f*, *f*). Bei Durchmusterung zahlreicher Präparate stellt man fest, daß der Saum des Blattwalles alsbald aufhört, gleichmäßig zu wachsen; er bildet freie Zipfel. Es sind das die isolierten Enden derjenigen Blätter, die in ihrem unteren Teil zu der gemeinsamen Blattscheide verschmolzen sind. Im älteren Zustand nehmen diese freien Randzipfel eine braune Färbung an. Gute, mediane Stengelschnitte zeigen, daß zunächst die zentral gelegenen Zellen des Vegetationskegels sich durch besondere Gestalt und Größe zu kennzeichnen beginnen. Es sind das die primären Innenzellen, die durch die erste perikline Wand (*pr*) in den Segmenten abgeschnitten wurden.

---

[1]) Nach der Vorschrift von G. Born, Arch. f. mikr. Anat., Bd. XXII, 1883, S. 584 ff. Über andere Methoden der Herstellung von Modellierplatten vgl. H. Strasser, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. III, 1886, S. 186.

[2]) Nach C. U. Ariëns Kappers, Zeitschr. f. wiss. Mikr., Bd. XXXII, 1915, S. 294.

Verfolgt man sie nach auswärts, so sieht man, daß sie sich noch eine Zeitlang vermehren, bedeutend an Größe zunehmen, sich longitudinal strecken und die Anlage des Marks bilden. Wir können sie daher als Zellen des Urmarks bezeichnen. Zählt man an den Blattansätzen die Zahl der Knoten und Internodien ab, so findet man, daß etwa im neunten Internodium das Mark fertig ausgebildet ist, und daß sich dieses im zehnten bereits auszuhöhlen beginnt. Die Figur 160 zeigt uns bei schwacher Vergrößerung einen Längsschnitt bis zum Anfang des neunten Internodiums; die fortschreitende Differenzierung des Marks ist in ihm angedeutet. Die Aushöhlung des Marks erfolgt durch seitliches Trennen und Auseinanderweichen der Zellen. Etwa in der Höhe des vierten Blattwirtels beginnt die Ausbildung der Stengelknoten. Man bemerkt, daß entsprechend dem oberen Rand der Blattansatzstelle eine scheibenförmige Zone von Zellen sich weniger gestreckt hat. Weiter im Stengel hinab zeichnen sich diese Zonen immer schärfer ab. Das Auseinanderweichen der Markzellen unterbleibt in den Knoten, wo sich die Zellen entsprechend vermehrt haben, und von wo aus sie dann blind in die Markhöhle hineinragen. So finden wir denn im fertigen Stengel die Höhlungen der Internodien durch die Gewebescheiben der Knoten diaphragmaartig abgeschlossen. Meist bemerkt man an der Blattscheide des vierthöchsten Blattwirtels den Beginn zur Ausbildung des Leitbündels in Gestalt eines Strangs aus engeren Zellen, des Prokambiumstrangs, der sich in der Blattscheide nahe der Innenfläche hält und sich im Stengel an der Außenseite des Marks verfolgen läßt. Seine Zellen fallen gegen jene des sich differenzierenden Marks durch ihre geringe Breite auf. Schon im nächsten Internodium sind in diesem Prokambiumstrang Ringgefäßtracheïden zu sehen. Die Ringgefäßtracheïden des Stengels und des Blattes stoßen unter stumpfem Winkel aufeinander. Die Ausbildung der Gefäßtracheïden schreitet in dem Blatt nach aufwärts, in dem Stengel nach abwärts bis zum nächsten Knoten fort. Infolge der raschen Streckung, welche die Internodien erfahren, werden die Ringe der zuerst gebildeten Gefäßtracheïden weit auseinandergezogen. Neue Ringgefäßtracheïden, die alsbald auch starke Dehnung erfahren, treten hinzu. Erst etwa in dem Knoten zwischen dem siebenten und achten Internodium wird die Gefäßtracheïdenverbindung zwischen den aufeinanderfolgenden Leitbündeln hergestellt durch Ausbildung schräger Brücken aus kurzen, schrauben- bzw. netzförmig verdickten Gefäßtracheïdgliedern. Die Gefäßtracheïden der ganz vorwiegend nur an ihrem oberen Rand wachsenden Blattscheiden erfahren eine geringe Streckung, und man sieht sie daher in fast ursprünglicher Gestalt an die stark gedehnten Vasalprimanen der Internodien ansetzen. Unter den Gefäßtracheïden der Blattscheide sind infolgedessen von Anfang an Schraubengefäßtracheïden vertreten, die einer Dehnung größeren Widerstand entgegensetzen würden als die Ringgefäßtracheïden.

Die Blattwirtel nehmen bei ihrer Entstehung die ganze freie Seitenfläche des Vegetationskegels ein, und so wird denn tatsächlich die ganze, die Internodien deckende Rinde aus den Blattbasen gebildet. Die Zellteilungen, denen diese Rinde ihre Entstehung verdankt, haben sich aber schon vom vierten Internodium ab am Grund der Blattscheide lokalisiert.

Es bleibt uns noch die Anlage der Seitenknospen zu besprechen, da wir in Wirteln den Stengel umgeben sehen. Die mikroskopische Betrachtung vorgerückter Zustände lehrt uns zunächst, daß die Knospen die

Blattscheiden durchbrechen, um nach außen zu treten, und daß sie mit den Rippen der Blattscheide alternieren. Die Rippen an den Blattscheiden entsprechen aber den freien Blattzipfeln; somit wechseln die Knospen in ihrer Lage mit den Blättern des betreffenden Wirtels ab. Die äußere Betrachtung der in Entwicklung begriffenen vegetativen Sprosse, wie wir sie hier in Untersuchung nahmen, zeigt uns ferner, daß die freien Enden jedes nächst tieferen Blattwirtels die Stellen decken, an denen die jungen Knospenanlagen hervorbrechen. Dies ist eben nur möglich, weil die Blätter in den aufeinanderfolgenden Blattwirteln alternieren. Erst nachdem die befreiten Knospen eine bestimmte Größe erreicht haben, ist die Streckung der Internodien so weit gediehen, daß sie nicht mehr von den freien Enden des nächst tieferen Blattwirtels erreicht werden. Die Knospenanlage an den Längsschnitten zu verfolgen, ist zunächst nicht ganz leicht. Es sind einzelne Oberflächenzellen in der Achsel des Blattwirtels, aus denen die Knospenanlage hervorgeht (*g* Fig. 159, 160). Eine solche Zelle schwillt alsbald an und teilt sich durch geneigte Wände, so daß schon die ersten drei Teilungen eine dreiseitig-pyramidale Scheitelzelle ergeben. Diese Zelle ist ihrer Anlage nach frei, eine Außenzelle; sie wird aber alsbald von der auswachsenden Blattscheide so eingeschlossen, daß nur ein enger Kanal auf sie hinführt. Sie scheint nun im Innern des Blattgewebes zu liegen, wo wir sie auf günstigen Schnitten an ihrer Größe erkennen (Fig. 160 *g*). Die Knospenanlage entspringt fast senkrecht aus dem Stengelgewebe; bei ihrer weiteren Entwicklung krümmt sie sich aber schräg nach oben (*g''*). Nachdem sie den ersten Blattwirtel angelegt, wird an der Außenseite ihrer Basis, durch eine Zellschicht von der Peripherie getrennt, eine dreiseitig-pyramidale Scheitelstelle als erste Anlage einer Wurzel ausgebildet. Diese Scheitelzelle (*r* bei *g''*, *r'* bei *g'''*) ist meist unschwer zu sehen. Sie tritt in Teilung ein und bildet einen kleinen Wurzelkörper mit Wurzelhaube. Dieser erhält auch einige Schraubengefäße, die an die Leitbündel des ersten Internodiums der Knospe ansetzen, entwickelt sich dann aber nicht weiter. Er durchbricht nicht die Blattscheide; durch Feuchtigkeit und Lichtmangel kann

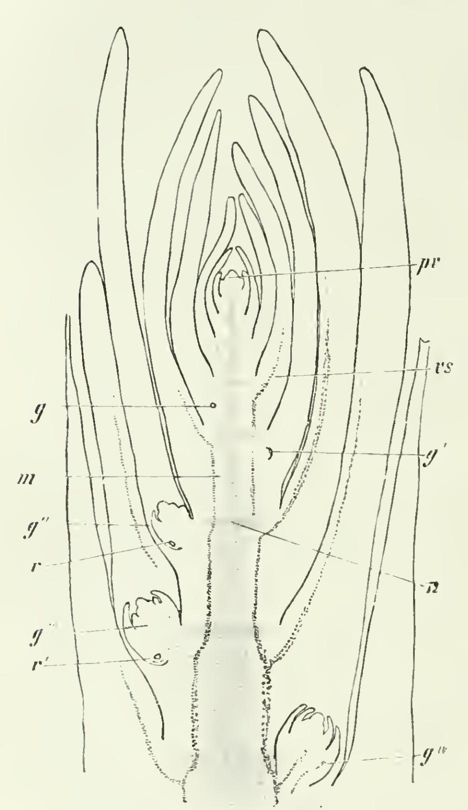


Fig. 160. Medianer Längsschnitt durch einen vegetativen Hauptsproß von Equisetum arvense. *pv* Vegetationskegel des Hauptsprosses, *g* Initiale für eine Knospe, *g'*, *g''*, *g'''*, g^{IV} Entwicklungszustände solcher Knospen, *r*, *r'* die Anlage einer Wurzel an den Knospen, *m* Differenzierung des Marks, *vs* auftretende Schraubengefäße, *n* Differenzierung der Knotendiaphragmen. Vergr. 26.

er übrigens zur Wiederaufnahme seines Wachstums angeregt werden. — Die Seitenknospen wachsen in derselben Weise, wie der Hauptsproß, und können ebensogut wie dieser zum Studium des Vegetationskegels gewählt werden. Eben dieser Umstand, daß man auf dem Längsschnitt meist zahlreiche Vegetationskegel bloßlegt, macht die vegetativen Sproßsysteme von Equisetum arvense für das Studium besonders geeignet. Die Seitenknospen bleiben lange Zeit in den Geweben der Blattbasen, die sie durch Dehnung aushöhlen, eingeschlossen, und so macht es den Eindruck, als wären sie endogenen Ursprungs, während wir sie doch exogen, d. h. aus einer oberflächlichen Zelle, entstehen sahen. Somit bilden die Seitenknospen des Equisetum keine Ausnahme von dem so allgemein exogenen Ursprung normaler Seitenzweige, während die Adventivzweige gewöhnlich endogen entstehen, und endogener Ursprung fast ausnahmslos den Wurzeln eigen ist. — Erst am zehnten bis zwölften Internodium wird die Blattscheide von den Seitenknospen durchbrochen, nachdem diese selbst schon etwa sechs Blattwirtel gebildet haben und der älteste dieser Blattwirtel den Knospen bereits hinlänglichen Schutz gewährt. Dann wird auch der Leitbündelanschluß der Knospe an das Leitbündelsystem des Muttersprosses durch kurze Netz- und Schraubengefäße vollzogen.

Jetzt gilt es, die am Längsschnitt gewonnenen Ergebnisse durch das Studium der Querschnitte zu ergänzen. Zu diesem Zweck müssen wir eine ununterbrochene Serie von Querschnitten herstellen, die, von der Sproßspitze beginnend, bis zu einer Stelle hinabreichen, an der alle Gewebedifferenzierung vollendet ist. Bei einiger Übung wird es gelingen, eine solche Serie lückenlos herzustellen. Die Querschnitte müssen ihrer Reihenfolge gemäß auf den Objektträger zu liegen kommen, wobei man darauf zu achten hat, daß sie nicht zu sehr aneinandergedrängt werden, weil sie sonst beim Auflegen des Deckglases leicht durcheinander geraten. Hier kommt es nicht darauf an, eine Seite der Schnitte besonders zu bezeichnen, weil sich alle Verhältnisse symmetrisch im Umkreis des Stengels wiederholen. Wo es hingegen von Wichtigkeit ist, eine bestimmte Stelle an den Schnitten zu bezeichnen, läßt sich dies am besten durch einen einseitigen, longitudinalen Einschnitt vor Ausführung der Querschnitte tun. — Wir durchmustern jetzt die aufeinanderfolgenden Querschnitte. Zunächst sehen wir solche, die den Vegetationskegel noch nicht erreicht haben. Diese bestehen nach außen zu aus geschlossenen Blattscheiden, nach innen zu aus isolierten Blattenden. Wir stellen hier bereits fest, daß die Blattscheiden den von außen sichtbaren Rippen gemäß angeschwollen sind. Wir haben somit so viel Anschwellungen, als Blätter in der Scheide vertreten sind. Die Verbindungsstellen zwischen den Anschwellungen sind auf die Epidermis der beiden Blattflächen reduziert. Jedes Blatt zeigt eine mehr oder weniger fortgeschrittene Leitbündelanlage, die nur durch eine Zellschicht von der Epidermis der Innenseite getrennt ist. Die Leitbündelanlage fällt durch den geringeren Durchmesser ihrer Zellen gegen das umgebende Blattgewebe auf. Aus dem prokambialen Zustand treten zunächst einige Gefäße an dem Innenrand hervor und einige besonders englumige, weißglänzende Kribralprimanen an dem Außenrand des Bündels. Die das Bündel umschließenden Grundgewebezellen zeigen frühzeitig die charakteristischen, dunklen Punkte der Endodermis auf den radialen Wänden. Die Zahl der im Wirtel verbundenen Blätter ist Schwankungen unterworfen. Meist trifft man ihrer 5—8 am Hauptsproß. — Einer der nächstfolgenden

Querschnitte nimmt den Scheitel des Vegetationskegels auf. Man sieht jetzt die Basalfläche der Scheitelzelle von oben, in Gestalt eines annähernd gleichseitigen, sphärischen Dreiecks (Fig. 161 *A*, *t*). Man stellt weiter fest, daß die Teilungen der Scheitelzelle stets parallel zu ihren Seitenflächen erfolgt sind. Schwieriger wird der Nachweis der weiteren Teilungen in den Segmenten: der ersten Teilung des Segments durch die Halbierungswand in zwei gleiche, übereinanderliegende Zellen, der Teilung jeder dieser Zellen durch eine die vorausgehenden senkrecht schneidende Wand, die Sextantenwand, in je zwei nebeneinanderliegende Zellen (Fig. 161). Sollte der Vegetationskegel nicht glücklich durch den Schnitt getroffen worden sein, so suche man an tieferen Schnitten nach Vegetationspunkten der

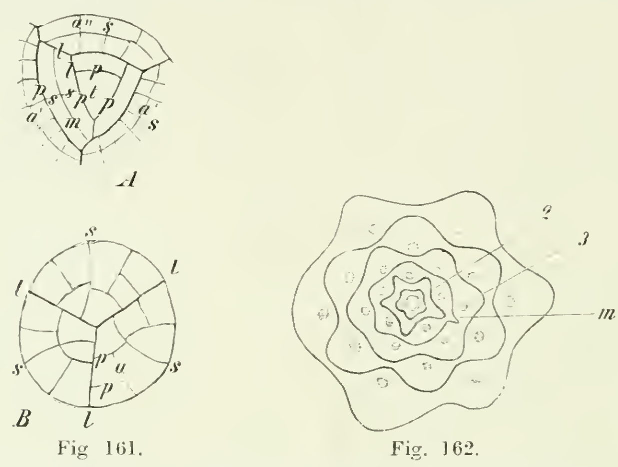


Fig 161. Fig. 162.

Fig. 161. *A* Scheitelansicht des Vegetationskegels von Equisetum arvense. *t* Basalfläche der Scheitelzelle, *p* Hauptwände, *l* Seitenwände, *m* Halbierungswand, *s* Sextantenwand, *a'*, *a''* spätere Antikline, und zwar *a'* parallel den Hauptwänden, *a''* senkrecht zu ihnen. *B* optischer Durchschnitt des Vegetationskegels unter der Scheitelzelle, *l* Seitenwände, *s* Sextantenwände, *a* spätere Antikline, *p* Perikline. Vergr. 240.
Fig. 162. Querschnitt durch den Scheitel eines sterilen Hauptsprosses von Equisetum arvense in der Höhe des Vegetationskegels. In der Mitte der Scheitel des Vegetationskegels, hierauf die alternierenden, zu Scheiden verbundenen Blattwirtel; von *3* zu *2* Verlust eines Gliedes im Wirtel; bei *m* die Lücke, vor der es nicht zur Blattbildung kam. Vergr. 28.

Seitenknospen. Diese bekommt man freilich in richtiger Scheitelansicht erst verhältnismäßig tief am Hauptsproß, an relativ großen Seitenknospen, die sich stark emporgerichtet haben, zu sehen. — Eine tiefere Einstellung der zuerst untersuchten Scheitelansicht des Vegetationskegels zeigt besonders anschaulich eine Anzahl der in den Segmenten auftretenden Teilungswände. Die Seitenwände der drei Segmente (Fig. 161 *B*, *l*) stoßen im Mittelpunkt des Vegetationskegels unter 120° zusammen. Jedes Segment zeigt sich geteilt durch die Sextantenwand (*s*), von der man feststellt, daß sie nicht eigentlich radial steht, vielmehr in schwachem Bogen gekrümmt, eine der Seitenwände des Segments (meist die in der Richtung der Teilungsspirale vordere [die anodische], seltener die in dieser Richtung hintere [kathodische]) mehr oder weniger rechtwinklig trifft. Man sieht auch die weiteren auf die Sextantenwände folgenden antiklinen (*a*) und periklinen (*p*) Wände. Einige Antiklinen nehmen oft ähnlichen Verlauf wie die Sextanten-

wände. So entsteht ein Bild (wie in Fig. 161 bei *B*), wo alle Scheidewände sich annähernd rechtwinklig schneiden, ein Bild, das außerordentlich häufig in den Querschnitten der Vegetationspunkte von Stengeln und Wurzeln der Gefäßkryptogamen, von Stengeln der Muscineen und selbst in flächenartig entwickelten Körpern der Algen wiederkehrt. — Mit dem nächsten Querschnitt haben wir bereits den sich erhebenden Blattwall getroffen, der aber nicht rund, vielmehr gleich an den Rippen gefördert, in die Erscheinung tritt. Die den Vegetationskegel nächstumgebende Scheide zeigt entsprechend vorspringende und einspringende Stellen. Diesen einspringenden Stellen gemäß werden die Rippen der neuen Blattscheide angelegt (Fig. 162). Dabei ist es eine nicht seltene Erscheinung, daß die Zahl der Rippen in den aufeinanderfolgenden Scheiden um eine (selten mehrere) abnimmt (so beispielsweise in der Figur 162 beim Übergang von der 6-gliedrigen Scheide 3 zu der 5-gliedrigen Scheide 2). Diese Erscheinung ließ sich auf Ernährungsverhältnisse zurückführen[1]).

Wollen wir die morphologische Differenzierung der Gewebe des Vegetationskegels und die Verteilung bzw. den Verlauf der einzelnen fertiggestellten Elemente in den tiefergelegenen Teilen des Sprosses[2]) verfolgen, so werden wir, wie bei allen jenen Untersuchungen über den Leitbündelverlauf innerhalb eines Stammteils, bzw. das Verhalten der Leitbündel bei ihrem Übertritt aus dem Stamm in eine Wurzel, mit Serien von Querschnitten am sichersten zum Ziel kommen. Stellt sich bei der zu untersuchenden Pflanze weiterhin sekundäres Dickenwachstum ein, so hat die Untersuchung sich an deren jüngste Teile, die nur primäre Gewebe führen, zu halten. Es empfiehlt sich, die betreffenden Teile zu härten, in Paraffin einzubetten, mit dem Mikrotom in Schnittbänder zu zerlegen und zu färben, so wie es in der Einleitung S. 59ff. angegeben wurde. Man wird für diese Beobachtung vorziehen, verhältnismäßig dicke Schnitte auszuführen, und zur Färbung etwa nur einen Farbstoff, wie Safranin, zu verwenden. In den Schnittbändern sind alle Querschnitte naturgemäß in gleicher Weise gelagert, was die Untersuchung sehr erleichtert. — Handelt es sich um einen komplizierten Leitbündelverlauf, so tut man gut, von allen Schnitten, bei denen dies wünschenswert erscheint, mit Hilfe eines Zeichenapparats eine Skizze auf Durchpauspapier zu entwerfen. Legt man dann diese Skizzen aufeinander und betrachtet sie gegen das Licht, so kann man die seitliche Verschiebung der einzelnen Bündel, ihre Verschmelzung und dergleichen mehr ohne weiteres feststellen. Um dann den Verlauf der Leitbündel auf eine ebengelegte Zylinderfläche zu übertragen, bedienen wir uns eines in Quadrate geteilten Papiers, auf dem die senkrechten Linien die Blattdivergenz, die wagerechten die aufeinanderfolgenden Internodien bedeuten. In dieses Schema tragen wir das aus den aufeinanderfolgenden Querschnitten gewonnene Ergebnis unserer Untersuchung ein. — Unter Umständen können zur raschen Orientierung über den Leitbündelverlauf innerhalb eines gegebenen Stammteils auch Längsschnitte führen, die sich bei Stengeln mit zu einem Kreise angeordneten Leitbündeln tangential innerhalb dieses Kreises zu halten haben, bei Stengeln mit zerstreutem Leitbündelverlauf auch radial-median sein müssen.

---

[1]) Vgl. K. LUDWIGS, Flora, Bd. CIII, 1911, S. 392.

[2]) Näheres bei F. J. MEYER, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LIX, 1920, S. 263 ff.; dort die übrige Literatur.

Nicht bei allen mit Scheitelzellen wachsenden Gefäßkryptogamen weist die Scheitelzelle eine dreiseitig-pyramidale Form auf, doch ist diese Form die verbreitetste. Es kommen aber auch zweischneidig-keilförmige Scheitelzellen vor, die Segmente in zwei Reihen bilden. Die zweischneidigen Scheitelzellen sind kriechenden, bilateral und dorsiventral entwickelten Stämmen eigen, die dreiseitig-pyramidalen aufrechten, multilateral gebauten. Die Gliederung der Segmente zeigt Verschiedenheiten. Die Blätter gehen aus genau bestimmten oder auch aus nicht bestimmten Segmentteilen hervor, verdanken einer einzigen Oberflächenzelle ihre Entstehung oder wölben sich gleich als mehrzellige Höcker hervor; sie wachsen eine Zeitlang mit einer zweischneidigen Scheitelzelle, oder eine solche ist nicht nachzuweisen. Somit macht uns Equisetum nur mit einem der gegebenen Differenzierungsvorgänge am Vegetationskegel bekannt, ohne die Mannigfaltigkeit der möglichen Fälle zu erschöpfen.

XVII. Abschnitt.

Vegetationskegel der Wurzel.

Inverse Tinktion. Verzweigung der Wurzeln. Scheitelzellen der Wurzeln.

Untersuchungsmaterial.

Wurzeln von Hordeum vulgare oder einer anderen Graminee, frisch. Wurzeln von Pteris cretica oder einem anderen Farn, frisch oder in Alkohol.

Wurzeln von Pisum sativum, oder von Aconitum napellus, oder von Brassica napus, ferner von Helianthus annuus. Wurzeln von Thuja occidentalis und Taxus baccata. Alle diese Objekte womöglich frisch.

Wichtigste Reagentien.

Chloralhydratlösung. — JAVELLE sche Lauge.

Es gilt nunmehr, den Vegetationskegel einer Wurzel zu untersuchen[1]), und zwar wählen wir unter den verschiedenen für die Angiospermen festgestellten Typen die charakteristischsten heraus. Bei den Monokotylen findet sich der Gramineentypus besonders verbreitet. Da er ziemlich einfache Verhältnisse aufweist, ist er sehr geeignet, uns in die betreffenden Vorgänge einzuführen. Wir lassen Körner der gemeinen Gerste, Hordeum vulgare, keimen und stellen, um uns zu orientieren, zunächst Querschnitte durch einen älteren Wurzelteil her. Wir finden in der Mitte des Zentralzylinders ein weites Gefäß, dann in dessen Umkreis etwa acht Vasalteile, die mit ebenso vielen Siebteilen alternieren. Wie auch sonst bei Gramineen, reichen die Gefäßtracheïden der Vasalteile hier bis an die Endodermis, unterbrechen somit den Perizykel. In der Endodermis kann man an den radialen Wänden die CASPARYschen Streifen als dunkle Schatten erkennen; dann folgt die dicke, primäre Rinde. — Den Längsschnitt durch die Wurzelspitze stellen wir zwischen Daumen und Zeigefinger her, was nur an frischem Material zu gelingen pflegt. Dieser Schnitt muß genau median sein; dann ist das Bild klar, selbst ohne Einwirkung von Reagentien, doch läßt sich auch hier mit Vorteil Chloralhydratlösung bzw. JAVELLEsche Lauge verwenden. — Vor allen Dingen fällt uns als Hauptcharakteristikum des Gramineentypus auf, daß der Wurzelkörper von der Wurzelhaube scharf abgegrenzt ist. Man kann tatsächlich eine Linie, die der Außenfläche der Epidermis folgt, fortgesetzt über den Scheitel, zwischen Wurzel-

[1]) J. SACHS, Lehrbuch, 4. Aufl. 1874, S. 166; E. v. JANCZEWSKI, Ann. d. sc. nat., Bot., 5. sér., T. XX, 1874, S. 162 ff.; M. TREUB, Musée bot. de Leide, T. II, 1876; A. DE BARY, Vergl. Anat., 1877, S. 10; CH. FLAHAULT, Ann. d. sc. nat., Bot., 6. sér., T. VI, 1878.

körper und Wurzelhaube, verfolgen (vgl. Fig. 163). Doch läuft das Dermatogen nicht als solches über den Scheitel, vielmehr ist festzustellen, daß das Dermatogen (*d*) und das Periblem (*pr*) am Scheitel in gemeinsamen Initialen gipfeln. In unserer Figur sind zwei solche gemeinsame Initialen vorhanden; es könnten ihrer noch mehr sein.

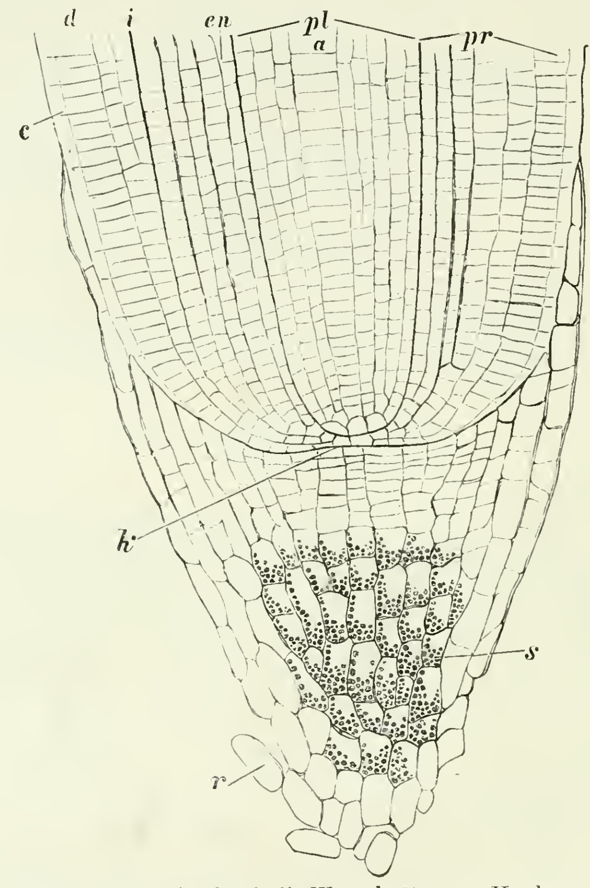


Fig. 163. Medianer Längsschnitt durch die Wurzelspitze von Hordeum vulgare. *k* Kalyptrogen; *d* Dermatogen; *c* dessen verdickte Außenwand; *pr* Periblem; *pl* Plerom; *en* Endodermis; *i* mit Luft sich füllende Interzellularen; *a* Zellreihe, aus der das zentrale Gefäß hervorgehen wird; *s* „Statolithen"-Stärke; *r* abgestoßene Zellen der Wurzelhaube. Vergr. 180.

Das Dermatogen erreicht als solches diese Initialen; das Periblem tritt auch, nur eine Zellschicht stark, bis an sie heran. Das Plerom gipfelt unter dieser gemeinsamen Dermatogen-Periblem-Kappe in eigenen Initialen. An die Linie, die Wurzelkörper und Wurzelhaube trennt, grenzen nach außen die Initialen für die Wurzelhaube, eine flachzellige Schicht bildend, die als Kalyptrogen (*k*) bezeichnet wird. Die von dem Kalyptrogen nach außen abgegebenen Zellen sind, ihrem Ursprung gemäß, in geraden Reihen angeordnet; zunächst flach, gewinnen sie bald an Höhe, wobei ihre Wände im Gegensatz zu den

vieler anderer Glumifloren[1]) unverdickt bleiben. Am Gipfel der Wurzelhaube runden sie sich ab, trennen sich schließlich voneinander und werden desorganisiert (*r*). — Eine Eigentümlichkeit der Gramineen ist es, daß ihr Dermatogen an der Außenseite stark verdickt wird (*c*). Diese verdickte Außenwand ist weißglänzend, stark quellbar und bildet so eine Schleimschicht, die um so dicker erscheint, je länger der Schnitt im Wasser liegt. An den seitlichen Grenzen der Zellen sieht man lichtbrechende Streifen mehr oder weniger tief in die verdickte Außenwand sich fortsetzen. Es sind das die primären Wände der Zellen, und zwar ragen sie um so tiefer in die verdickte Wand hinein, je älter sie sind. Diese Wand zeigt deutlich Schichtung. Das Periblem hat durch perikline Teilungen die Zahl seiner Zellagen rasch vermehrt. Zwischen seinen inneren Zellagen treten sehr bald mit Luft erfüllte Interzellulargänge auf, so wie dies in unserer Figur durch dunkle Linien angedeutet ist (z. B. bei *i*). Das Periblem erzeugt die Rinde, seine innerste Schicht wird zur Endodermis. Das Plerom endet kegelförmig in einer Gruppe von Initialen, von denen einige in dem abgebildeten Längsschnitt zu sehen sind. Das Plerom bildet den Zentralzylinder. Die Differenzierung des großen, zentralen Gefäßes in letzterem läßt sich bis unter die Initialengruppe verfolgen. Die Zellen, aus denen dieses Gefäß hervorgehen soll, zeichnen sich durch größere Breite aus (*a*).

Der hier beschriebene Typus ist, wie schon erwähnt, nicht der einzige, der für Angiospermen-Wurzeln gilt. Es kommen zahlreiche Modifikationen davon vor, von denen wir eine der verbreitetsten noch anführen wollen. So finden wir bei Dikotylen oft den Fall, daß Wurzelhaube und Epidermis gemeinsam ausschließlich durch perikline Teilungen im Dermatogen und in den „Schlußzellen" gebildet werden, jenen Zellen, die den Abschluß des Embryos gegen den bei seiner Entwicklung auftretenden Suspensor (vgl. d. XXX. Abschn.) bewirken. Dieser Typ findet sich bei verschiedenen Leguminosen, so der Erbse (Pisum sativum), Ranunculaceen, z. B. dem Eisenhut (Aconitum napellus), Cruciferen, so dem Raps (Brassica napus) und ähnlich auch bei der Sonnenblume (Helianthus annuus)[2]).

Die Wurzeln der Gymnospermen[3]) zeigen eine in mancher Beziehung eigenartige Gliederung im Meristem ihres Vegetationskegels. Wir wollen den Lebensbaum, Thuja occidentalis, daraufhin näher untersuchen. Der Querschnitt durch die ausgewachsene Wurzel gleicht dem uns schon bekannten Querschnitt durch die Wurzel von Taxus baccata, nur daß die Wurzeln der Thuja meist tetrarch gebaut sind. Der mediane Längsschnitt durch die Wurzelspitze wird von uns zunächst in Wasser, dann nach Behandlung mit Javellescher Lauge untersucht. Er zeigt einen scharf begrenzten Pleromzylinder, der in wenigen Initialen gipfelt und von einem vielschichtigen, 12—14 Zellagen starken Periblemmantel umgeben wird. Dieser setzt sich über den Scheitel fort, und zwar bilden dort seine 8—10 inneren Reihen geschlossene Initialschichten, während die äußeren Reihen

[1]) Vgl. W. Rasch, Beitr. z. allg. Bot., herausgeg. v. G. Haberlandt, Bd. I, 1916, S. 80 ff.

[2]) Vgl. E. Tiegs, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LII, 1913, S. 622 ff.; ferner die Darstellung in G. Haberlandt, Physiol. Pflanzenanatomie, 5. Aufl., 1918, S. 82 ff.; dort auch die neuere Literatur.

[3]) E. Strasburger, Koniferen und Gnetaceen, 1872, S. 340; A. de Bary, Vergleichende Anatomie, 1877, S. 14. Dort auch die weitere Literatur.

in unregelmäßig angeordnete, relativ große Zellen übergehen. Die großen Zellen reichen bis zum Gipfel der Wurzelhaube, wo sie schließlich aus dem Verband treten und abgestoßen werden. Die Wurzelhaube der Thuja und der Gymnospermen überhaupt besteht aus den äußeren Teilen des Periblems; Dermatogen wie Kalyptrogen fehlen. Die über den Pleromscheitel laufenden Initialschichten des Periblems teilen sich durch perikline und antikline Wände. Die periklinen Teilungen vermehren die Zahl der Periblemschichten und ergänzen von innen aus die an der Peripherie abgeworfenen Elemente. Die antiklinen Wände vermehren die Zahl der Zellen in den einzelnen Schichten und sorgen vornehmlich für den Aufbau der Rinde. Da die antiklinen Wände in den aufeinanderfolgenden Schichten ziemlich genau aufeinandertreffen, bilden sie antikline Zellreihen, die in der Mitte gerade, nach den Seiten hin wie die Strahlen eines Springbrunnens auseinanderweichen, eine Schar koaxialer Parabeln darstellend. So erscheinen uns auch hier die Antiklinen und Periklinen als orthogonale Trajektorien. Die periklinen Teilungen in den Initialschichten des Scheitels haben zur Folge, daß man die Zellreihen der Rinde, wenn man sie gegen die Spitze hin verfolgt, sich stetig verdoppeln sieht. Die mittelsten, geraden, antiklinen Zellreihen im Periblem der Wurzelspitze zeichnen sich vor den benachbarten aus. Sie bilden eine „Periblemsäule“, die in den äußeren, gebräunten Elementen der Wurzelhaube sich verliert. Diese Säule erscheint heller, indem ihre Zellen unmittelbar aneinanderschließen, während die seitlich angrenzenden lufterfüllte Interzellularräume zwischen sich lassen und so in ihrer Gesamtheit dunkler erscheinen. Auch sind die Zellen der Säule durch besonderen Stärkereichtum ausgezeichnet. Wie wir sehen, geht der Wurzel von Thuja eine Epidermis ab; ihre Seitenflächen werden von der jeweilig äußersten Periblemschicht eingenommen (Primitivepiblem nach A. Meyer)[1]). Verfolgt man eine solche Schicht in der Richtung zum Scheitel, so sieht man sie alsbald unter eine andere gelangen, die nunmehr eine Zeitlang die Oberfläche behauptet. Diese äußersten, lebenden Zellschichten werden an ihrer Oberfläche von den geschrumpften und gebräunten Wänden abgestorbener Zellschichten geschützt. — Die Figur 164 gibt bei schwacher Vergrößerung das Bild eines Längsschnittes durch eine Wurzelspitze wieder und dürfte die Orientierung erleichtern. Die Zellzüge konnten freilich bei so geringen Dimensionen nur angedeutet werden. Wir sehen somit, von außen nach innen fortschreitend, die gebräunten, geschrumpften Zellhüllen (*x*), dann das Periblem (*pr*), das sich über den Scheitel verfolgen läßt, und dessen äußerste Lagen dort die Wurzelhaube bilden, endlich das Plerom (*pl*), dessen oberer Abschluß bei schwacher Vergrößerung nicht ganz deutlich wird. Ja man neigt dazu, den oberen Teil des Pleroms für umfangreicher zu halten, als er wirklich ist, weil die innersten, an das Plerom grenzenden Schichten des Periblems ohne Interzellularräume sind und daher (was unser Bild andeutet) eben so hell wie der Pleromzylinder erscheinen. Der Pleromzylinder zeigt sich im ältesten Teil des Schnittes von einer roten Zellschicht eingefaßt, die, wie ein Vergleich mit dem Querschnitt lehrt, der mit rotem Zellsaft erfüllten Endodermis entspricht. Letztere wird scheitelwärts schon in merklicher Entfernung von der Vegetationsspitze unkenntlich. Auch Gefäßtracheïden (*s*) treten in den älteren Teilen des Pleromzylinders auf. Den Periblem-

[1]) S. bei M. Plaut, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVII, 1910, S. 132, 146 ff.

scheitel durchsetzt die sich heller zeichnende Säule (*c*). An diese stoßen seitlich die lufthaltigen Periblemschichten; sie erreichen aber weder das Plerom, noch auch die Oberfläche der Wurzel vollständig. Diese wird von größeren, sich bräunenden Zellen eingenommen[1]).

Wie schon erwähnt wurde, zeichnen sich die Zellen der die Wurzelspitze durchsetzenden „Säule“ durch ihren engeren Verband und durch ihren Stärkereichtum aus. Ähnliche Verhältnisse bieten auch die Wurzeln der Angiospermen; sie haben Veranlassung zur Unterscheidung einer „Säule der Wurzelhaube“ [2]) gegeben. Němec und Haberlandt suchen zu begründen, daß die stärkeführenden Zellen der Wurzelspitze, ferner die der „Stärkescheiden“ (vgl. S. 252) anderweitiger Pflanzenorgane geotropische Reize besonders perzipieren. Die in ihnen befindlichen, leicht beweglichen Stärkekörnchen (vgl. Fig. 163*s*, auch Fig. 165) sollen diesen Reiz auslösen, indem sie bei Lagenänderung der Organe infolge ihrer Schwere auf die jedesmalig physikalisch untere Seite hinabsinken und auf die zytoplasmatische Hautschicht einen einseitigen Druck ausüben, der als Schwerkraftreiz empfunden wird (Statolithentheorie)[3]).



Fig. 164. Längsschnitt durch die Wurzelspitze von Thuja occidentalis, *x* äußere, gebräunte Lage aus abgestoßenen Zellen, *pr* Periblem, *e* Endodermis, *pl* Plerom, *s* Schraubengefäßtracheïden, *c* Periblemsäule, *k* Wurzelhaube. Vergr. 26.

Um die Stärkekörner in den Wurzelspitzen-Präparaten besonders deutlich hervortreten zu lassen, lege man die Schnitte in Jodphenol (s. Reg. IV) oder wende die von Němec[4]) vorgeschlagene Modifikation des Rawitzschen inversen Tinktionsverfahrens (s. Reg. IV Tannin-Brechweinstein-Beize) an. Die von dem mit Pikrin-Eisessig-Schwefelsäure, oder mit Chromsäure, oder schließlich mit Chrom-Osmium-Essigsäure fixierten Material hergestellten Mikrotomschnitte, die im letzten Fall zur Beseitigung der Osmiumschwärzung mit Terpentin oder Wasserstoffsuperoxyd zu behandeln sind, werden in Wasser abgespült und dann in eine 2-proz. wässr. Tanninlösung überführt, worin sie 10—60 Min. verbleiben. Hierauf werden sie etwa 1 Min. in Wasser gewaschen und kommen auf 5—15 Min. in 1,5-proz. wässr. Brechweinsteinlösung. Sie werden dann in mehrmals gewechseltem Wasser etwa 1—3 Min. lang gut ausgewaschen und kommen hierauf in die Farblösung, z. B. in wässr. Gentianaviolettlösung. Das Auswaschen nach der Brechweinsteinbehandlung ist unbedingt nötig, da sonst im Präparat Niederschläge entstehen, die kaum mehr zu entfernen sind. In der Farblösung

---

[1]) Über die zum Schutz im Winter durch Verkorkung bestimmter Zellagen erfolgende „Metakutisierung“ der Wurzelspitze, vgl. M. Plaut, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVIII, 1910, S. 143 ff., Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXVII, 1919, S. (6) ff.

[2]) J. Reinke in Hansteins Bot. Abh., Bd. 1, H. 3, 1871, S. 19.

[3]) Vgl. den Abschnitt „Die Sinnesorgane für den Schwerkraftreiz“ in G. Haberlandt, Physiol. Pflanzenanat., 5. Aufl., 1918, S. 555 ff., dort auch d. zugeh. Lit. S. a. S. 244 dieses Praktikums und die Darstellung H. v. Guttenbergs in der Wochenschrift „Die Naturwissenschaften“, Bd. VIII, 1920, S. 571 ff.

[4]) B. Němec, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXIV, 1906, S. 528

verbleiben die Schnitte 30 Min. oder länger. Sodann werden sie etwa 5 Min. lang in Wasser gewaschen, durch Alkohole von steigender Konzentration in Alk. abs. überführt, wo man sie solange (ca. 5 Min.) läßt, bis keine auffallenden Farbstoffwolken mehr entweichen. Sie werden dann schnell in Terpentin, aus diesem in Xylol gebracht und in Kanadabalsam eingeschlossen. In den auf diesem Wege der inversen Färbung hergestellten Präparaten erscheint der Zellinhalt nur ganz schwach grau oder violett, einzelne Teile gar nicht gefärbt. Die Zellulose-Zellwände erscheinen schwach, verschleimte Zellwände stärker violett gefärbt. Was jedoch sofort bei solchen Präparaten ins Auge fällt, das sind die stark violett gefärbten Stärkekörner, deren Verteilung in der Zelle sich damit sehr leicht studieren läßt, während die Leukoplasten grau sind und sich kaum in der Färbung vom Zytoplasma abheben. — Soll das Zytoplasma ganz ungefärbt bleiben und damit der Gegensatz zu den leuchtend violett gefärbten Stärkekörnern noch stärker werden, so beizt man die Schnitte nur mit 2-proz. Tannin und zwar etwa 30—60 Min. lang. Hierauf wäscht man in Wasser aus und überträgt die Präparate auf 30—60 Min. in wässr. Gentianaviolett. Die Differenzierung im Alkohol muß vorsichtig geschehen, damit die Entfärbung nicht zu stark werde. Am besten wechselt man die schwächeren Alkohole rasch und läßt die eigentliche Entfärbung in Alk. abs. sich vollziehen. — Hat man die Absicht, das Zytoplasma stärker zu färben, wobei natürlich die Stärkekörner in ihrer Färbung nicht so auffallen, dann läßt man die Schnitte länger in Brechweinstein. Je länger sie darin verbleiben, desto stärker wird das Zytoplasma, auch die achromatischen Bestandteile der Teilungsfiguren gefärbt. — Diese Methoden lassen sich auch mit einer Färbung der Zellkerne, sowie der Chromosomen verbinden. Man durchfärbt z. B. die Objekte vor dem Einbetten in Paraffin mit Parakarmin. Die Kerne behalten dann auch während der inversen Tinktion ihre schöne rote Farbe. Auch kann man Schnitte von ungefärbten Objekten mit Fuchsin S. färben und dann invers tingieren; da sich dann in Brechweinstein die Fuchsintinktion sehr schön differenziert, so daß fast nur die Kerne gefärbt bleiben, so erhält man auf diese Weise sehr schöne Doppelfärbungen. Auch nach der Heidenhainschen Methode kann man die Schnitte färben, worauf man invers tingiert. In solchen Präparaten erscheinen die Kerne schwarz, das Zytoplasma schwarzgrau, die Stärkekörner leuchtend violett. — Gentianaviolett gibt die schönsten Resultate. Mit großem Vorteil läßt sich aber auch Safranin, wie es beim Flemmingschen Dreifarbenverfahren angewendet wird, benutzen. Nach einer sukzessiven Beizung mit Tannin und Brechweinstein bekommt man sehr schöne Zytoplasmafärbungen. Die Stärkekörner treten wohl nicht so scharf hervor, sind jedoch gut zu sehen. Falls man bloß mit Tannin beizt, erhält man eine ebenso reine und ausschließliche Färbung der Stärkekörner, wie mit Gentianaviolett. Auch Smaragdgrün, mit Fuchsin S. kombiniert, gibt schöne Bilder. — Němec wandte die beschriebene Methode mit großem Erfolg bei seinen Statolithenstudien an, wobei sich überraschend schöne Bilder der Verteilung von Stärke in Zellen und Geweben darboten. Er weist darauf hin, daß man mit Hilfe dieser inversen Methode auch Pilzhyphen in den Zellen sehr klar färben kann, da deren Wände sich ebenso intensiv wie Stärkekörner färben. Besonders beim Studium der Mykorrhiza in Neottia-Wurzeln leistete diese Methode gute Dienste.

Wir wollen auch die Koniferenwurzeln benutzen, um uns mit den Verzweigungsverhältnissen der Wurzeln bekannt zu machen. Es fällt uns bei der Untersuchung der Wurzeln von Thuja occidentalis[1]) auf, daß sie in vier, evtl. auch in drei geraden Reihen ihre Seitenwurzeln tragen. Wir erkennen leicht an Querschnitten, daß drei Reihen von Seitenwurzeln triarchen, vier Reihen tetrarchen Zentralzylindern entsprechen. Wir stellen nunmehr einen Querschnitt durch eine Wurzel an der Ansatzstelle einer Seitenwurzel her und finden, daß die Seitenwurzel vor einem Gefäßteil steht. Da nun die Gefäßteile in gerader Richtung im Zentralzylinder verlaufen, so erklärt sich hieraus auch die geradzeilige Anordnung der Seitenwurzeln. Wir verfolgen auch noch weiter die Einzelheiten des Anschlusses. Da sehen wir vor allem, daß die Gefäßteile der Seitenwurzel an dem dieser zunächst liegenden Gefäßteil der Mutterwurzel anknüpfen. Bei tetrarchem Bau der Seitenwurzel setzen je zwei Gefäßteile oben und unten, bei triarchem zwei oben, ein einziger unten an. Der Anschluß erfolgt an den äußersten Schraubengefäßtracheïden des Gefäßteils der Mutterwurzel. Der Zentralzylinder der Seitenwurzel geht in den der Mutterwurzel über. Die Siebteile der Seitenwurzel setzen an die der Mutterwurzel an. Ebenso sind die Perizykel und die Endodermen beider in Verbindung. Die Endodermis führt roten Zellsaft und tritt daher sehr scharf hervor. Die Rinde der Seitenwurzel ist somit durch die Endodermis sowohl gegen den eigenen wie gegen den Zentralzylinder der Mutterwurzel abgeschlossen. Die transversalen Ringe der an die Endodermis grenzenden Verstärkungsschicht lassen sich bis an die Endodermis der Mutterwurzel verfolgen. Alle verholzten Teile des Schnittes werden nach Zusatz von Salzsäure oder Schwefelsäure, anscheinend durch das Vorhandensein von Phlorogluzin (s. S. 267) in der Rinde bedingt, schön violett gefärbt. Die Rinde der Seitenwurzel keilt sich an ihrem Grund in wenig Zellreihen aus. Sie erreicht den Zentralzylinder der Mutterwurzel. Deren Rindenkörper ist entsprechend durchbrochen; er zeigt sich mit einer gebräunten, aus abgestorbenen Zellresten gebildeten Oberfläche gegen die Tochterwurzel abgegrenzt.

Die Wurzeln der Gefäßkryptogamen, die seitlich Tochterwurzeln den Ursprung geben, erzeugen diese stets vor den Gefäßteilen, so daß die Seitenwurzeln in soviel Reihen stehen, als Gefäßteile in der Mutterwurzel vorhanden sind. Das gilt hier auch für diarche Wurzeln. Bei den Phanerogamen hingegen bilden diarche Wurzeln ihre Seitenwurzeln nicht vor dem Gefäßteil, sondern zu dessen Seiten aus, so daß jedem Gefäßteil zwei Reihen von Seitenwurzeln entsprechen (s. a. S. 299). Phanerogame Wurzeln, die mehr als zwei Gefäßteile führen, bilden ihre Seitenwurzeln vor diesen. Die Zahl der Seitenwurzelreihen entspricht alsdann der Zahl der Gefäßteile. Eine Ausnahme von diesem Verhalten bieten die Umbelliferen, Araliaceen und einige andere dikotyle Pflanzenfamilien. Bei diesen liegt nämlich vor dem Gefäßteil ein Ölgang, und diesem ausweichend entspringen die Seitenwurzeln zu den beiden Seiten des Gefäßteils, zwischen diesem und dem Siebteil. Es gibt somit doppelt soviel Reihen Seitenwurzeln als Gefäßteile. Bei den Gramineen und einigen anderen Monokotylen, wo der Perizykel vor den Gefäßteilen mehr oder weniger vollständig fehlen kann, werden die Seitenwurzeln vor den Siebteilen angelegt, und zwar vermittels eines neuen Bildungsgewebes, das unter Vasalprimanen und Sieb-

---

[1]) Vgl. u. a. W. Noelle, Bot. Ztg., LXVIII. Jahrg., 1910, S. 233 ff.

teil einerseits und den großen Gefäßen andererseits zu liegen kommt[1]). Die Zahl der Seitenwurzelreihen entspricht alsdann der Zahl der Gefäßteile, doch alternieren sie miteinander[2]).

Die Seitenwurzeln der Koniferen, sowie die anderer Gefäßpflanzen, werden akropetal angelegt. Nur ausnahmsweise erfolgt die nachträgliche Einschiebung von Seitenwurzeln zwischen schon vorhandene. Will man somit die Entwicklungsgeschichte der Seitenwurzeln verfolgen, so muß man die Mutterwurzel in entsprechender Region an aufeinanderfolgenden Querschnitten oder an richtig geführten Längsschnitten studieren. Wir führen diese Untersuchung an einer kräftigen, in reichlicher Verzweigung begriffenen Wurzel der Eibe, Taxus baccata (eine andere Konifere kann ebenso benutzt werden), aus. Auf Längsschnitten trifft man die gewünschten Zustände leichter als auf Querschnitten, nur muß man darauf achten, daß die Längsschnitte in der Ebene der Gefäßteile, in der ja die Verzweigung erfolgt, ausgeführt werden. Die Querschnitte sind insofern lehrreicher, als sie die Beziehung zu den Gefäßteilen der Mutterwurzel besser zeigen. Die Bildung der Anlage wird durch perikline Teilungen im Perizykel vor den Gefäßteilen eingeleitet. Die Teilungszone breitet sich an ihren Rändern aus, während sie gleichzeitig in ihrer Mitte durch fortgesetzte perikline und antikline Teilungen an Dicke zunimmt. Die Endodermis wird von dem sich bildenden Höcker gedehnt. In der Verstärkungsschicht der Endodermis sieht man die radialen Bänder unkenntlich werden und schwinden. Die Endodermis selbst tritt alsbald mit in Teilung ein, sie beteiligt sich an der Bildung der äußersten Kappen der Wurzelhaube. Alsbald ragt die Anlage der Tochterwurzel in die Rinde der Mutterwurzel hinein, diese dort verdrängend und zerstörend. Ist etwa die halbe Dicke der Rinde durchsetzt, so beginnt sich in der Wurzelanlage der Pleromscheitel gegen das Periblem abzuheben. Nachdem die Tochterwurzel die Rinde durchbrochen hat, bilden sich die ersten Gefäßtracheïden im Anschluß an die der Mutterwurzel aus; erst später fängt die Endodermis und deren Verstärkungsschicht an, sich am Grund der Anlage zu kennzeichnen.

Bei allen phanerogamen Pflanzen ist der Perizykel bzw. innerhalb des Perizykels entstehendes Teilungsgewebe an der Anlage der Seitenwurzeln beteiligt. Bei den Gefäßkryptogamen hingegen wird die Scheitelzelle für die Seitenwurzel in der als Endodermis ausgestalteten, innersten Rindenschicht gebildet, und zwar von einer vor dem Gefäßteil gelegenen Zelle, die vielfach schon durch ihre Größe auffällt[3]). Diese Scheitelzelle ist somit bei den Gefäßkryptogamen durch den Perizykel von dem Gefäßteil getrennt. Nur Equisetum macht hierin eine Ausnahme. Bei Equisetum verdoppelt sich die innerste Rindenschicht, das Phloeoterma, ihre äußere Zellage wird zur Endodermis, ihre innere Zellage vertritt den fehlenden Perizykel und bildet auch die Scheitelzelle der Seitenwurzeln, die somit[4]) unmittelbar an die Gefäßteile der Mutterzelle grenzt.

Wir wollen nunmehr auch eine mit Scheitelzelle versehene Wurzel ins Auge fassen und die Vorgänge, die zu ihrer Bildung

---

[1]) Vgl. S. Rywosch, Zeitschr. f. Bot., I. Jahrg., 1909, S. 268 ff.

[2]) Ph. van Tieghem, Traité de Botanique, II. Edit., 1891, S. 700 u. 706.

[3]) C. Nägeli u. H. Leitgeb, Beitr. z. wiss. Bot., 4. Heft, 1868, S. 88; Ph. van Tieghem, Ann. d. sc. nat., Bot., 7. sér., T. VII, 1889, S. 363.

[4]) Ph. van Tieghem, l. c. 1889, S. 394; E. Strasburger, Leitungsbahnen, 1891, S. 434.

führen[1]). Denken wir uns bei einer solchen Wurzel die Haube hinweg, so haben wir es im wesentlichen mit entsprechenden Verhältnissen wie am Stammvegetationskegel zu tun. Die mit Scheitelzelle wachsenden Wurzeln stehen freilich an Mannigfaltigkeit des Verhaltens den mit Scheitelzelle wachsenden Stämmen nach. Stets tritt uns bei solchen Wurzeln nur die dreiseitig pyramidale Scheitelzelle entgegen, und auch die Gliederung der aus ihr erzeugten Segmente bleibt sich im wesentlichen gleich. — Wir untersuchen die Wurzeln von Pteris

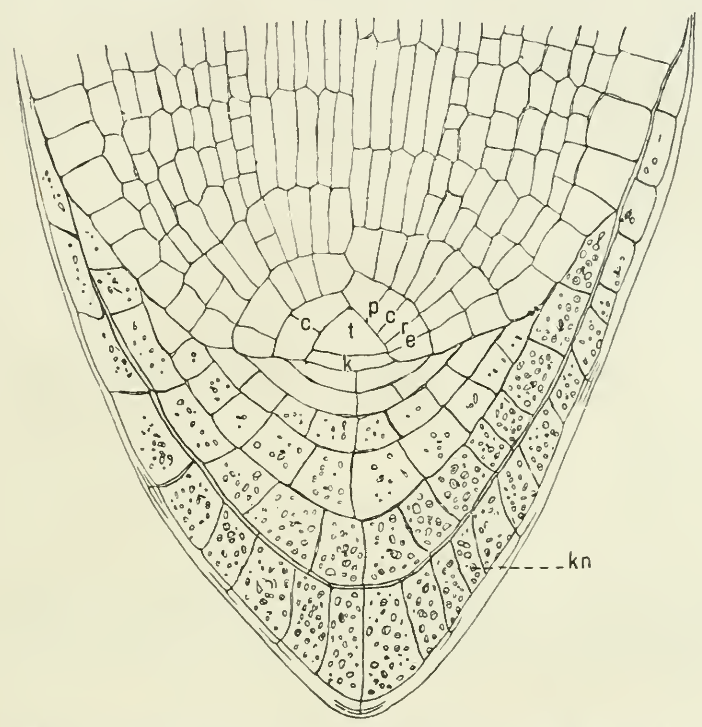


Fig. 165. Medianer Längsschnitt durch die Wurzelspitze von Pteris cretica. *t* Scheitelzelle; *k* Haubeninitiale; *kn* äußerste Kappe; *c* Mittelrindenwand; *p* Außenwand des Zentralzylinders; *r* Außenrindenwand; *e* Epidermiswand. Vergr. 240.

cretica (Fig. 165), können aber ebensogut andere Farnkräuter wählen. Durch Umstülpen der Blumentöpfe, in denen Farne kultiviert werden, gelangen wir leicht zu unversehrten Wurzelspitzen. Die Wurzeln von Pteris cretica, wie der Farnkräuter überhaupt, sind diarch gebaut, mit den beiden Gefäßteilen wechseln zwei flache Siebteile ab; der Perizykel (Perikambium) ist einschichtig, die Endodermis flach, die primäre Rinde gebräunt, in ihren inneren Teilen stark verdickt. Wir suchen, zwischen Daumen und Zeigefinger einen feinen, medianen Längsschnitt durch die Wurzelspitze zu erhalten. Es ist nicht eben schwer, die Scheitelzelle zur Ansicht zu bekommen; sie ist von dem Gewebe der Wurzelhaube bedeckt. Diese Scheitelzelle

[1]) C. Nägeli u. H. Leitgeb, l. c. 1868, S. 74 ff.; ferner A. C. Hof. Bot. Zentralbl., Bd. LXXVI, 1898, S. 69 ff.

(*t*) hat die Gestalt einer dreiseitigen Pyramide, deren konvexe Grundfläche nach der Haube gekehrt, während die durch das Zusammenstoßen der drei Seitenflächen gebildete Spitze in den Wurzelkörper eingesenkt ist. Die Teilungen erfolgen parallel zu den Seitenflächen; außerdem aber wird von Zeit zu Zeit, meist nach je drei der seitlichen Teilungen, eine der konvexen Grundfläche gleichgerichtete Wand gebildet (*k*). Die Scheitelzelle behält bei dieser Teilung ihre Form; die nach außen abgegebene Zelle hat aber nahezu die Gestalt eines Kugelabschnittes. Diese Zelle (*k*) ist eine Haubeninitiale; sie gibt einer kappenförmigen Zellschicht der Wurzelhaube den Ursprung. Sie teilt sich zunächst durch eine auf ihrer Grundfläche senkrechte Wand in zwei Hälften; jede Hälfte erfährt eine weitere Teilung, so daß vier im Grundriß quadratische Zellen entstehen. In diesen wiederholen sich die Teilungen stets durch senkrecht gegen die Grundfläche gerichtete Wände, so daß eine ältere Kappe (*kn*) aus einer großen Anzahl von Zellen besteht[1]). Die Zellen der älteren Kappen füllen sich mit evtl. als Statolithen wirkenden Stärkekörnern. Sie werden allmählich desorganisiert, während die Scheitelzelle fort und fort neue Kappeninitialen nachliefert. Die Außenwände der jeweilig äußersten Kappenzellen werden stark verdickt.

Die parallel zu den Seitenflächen der Scheitelzelle gebildeten Scheidewände, durch welche die Segmente für den Wurzelkörper angelegt werden, folgen, wie im Stamm von Equisetum, der Richtung einer Schraubenlinie. Die erste Wand in diesen Segmenten ist eine antikline Längswand, welche die Hauptwände der Segmente senkrecht trifft und in ihrem Verlauf jene Eigentümlichkeit zeigt, die wir an der Sextantenwand von Equisetum kennen gelernt haben. Der mediane Längsschnitt zeigt uns diese Wand nicht, wir werden sie erst am Querschnitt sehen. Im Längsschnitt hingegen zeigt sich als erste Wand die sog. Kambiumwand, die der Außenwand des Segments parallel läuft und von jedem der gebildeten Sextanten eine kleinere, äußere Zelle abschneidet. Aus der größeren, inneren Zelle der Sextanten wird der Zentralzylinder, aus der kleineren, äußeren die Epidermis und Rinde hervorgehen. Es folgt hierauf die sog. Epidermiswand (*e*), welche die äußere Zelle jedes Sextanten in zwei Hälften zerlegt. Die außerhalb der Wand *e* gelegene Zelle wird sich nur noch antiklin teilen und die Epidermis bilden. Die mittlere Zelle des Sextanten wird die Rinde erzeugen und erhält alsbald eine sie halbierende, perikline Wand (*r*), die als Rindenwand bezeichnet wird und die innere von der äußeren Rinde trennt. In den beiden Rindenzellen erfolgen weitere antikline (im Längsschnitt nicht sichtbare) und perikline Teilungen, die in der äußeren Rinde zentrifugal, in der inneren Rinde zentripetal fortschreiten. Die innerste Schicht der inneren Rinde bildet sich als Endodermis aus. Die innerhalb der Kambiumwand gelegenen Zellen werden zuerst (durch die Wand *p*) periklin geteilt und zwar in innere, tiefere und äußere, flachere Zellen. Die äußeren, flacheren Zellen geben den einschichtigen Perizykel, während die inneren durch fortgesetzte Teilung den vom Perizykel umschlossenen Teil des Zentralzylinders bilden.

[1]) Auch C. NÄGELI und H. LEITGEB geben an, die einzelnen Kappen der Farnwurzel seien einschichtig; Beitr. z. wiss. Bot., H. 4, 1868, S. 3; nach PH. VAN TIEGHEM, Ann. d. sc. nat., Bot., 7. sér., T. VIII, 1888, S. 532, und D. H. CAMPELL, Mosses and Ferns, 1895, S. 329, ebenso 2. Aufl., 1905, S. 337, werden die Kappen in ihrem mittleren Teil zweischichtig.

Um alle die genannten Einzelheiten festzustellen, ist freilich ein eingehendes Studium des Objekts nötig; mit Hilfe der Figur 165 wird man sich aber doch annähernd orientieren können. Man wird bis ziemlich tief hinab am Längsschnitt die einzelnen Segmente abgrenzen können. Als Anhaltspunkt dient das zickzackförmige Ineinandergreifen der Segmente. Die schiefe Lage der Segmente geht allmählich in eine gerade über, und zwar eilt hierin der innere „Prokambiumteil" des Segments dem „Rindenteil" voraus, so daß das Segment zeitweise knieförmig gebogen erscheint. Sind die Segmente gerade gerichtet, so stoßen sie auch mit geraden Wänden aneinander. — Die am Längsschnitt gewonnenen Anschauungen wollen wir noch an Querschnitten zu vervollständigen suchen. Wir schneiden, vom Scheitel beginnend, zwischen Holundermark. Die

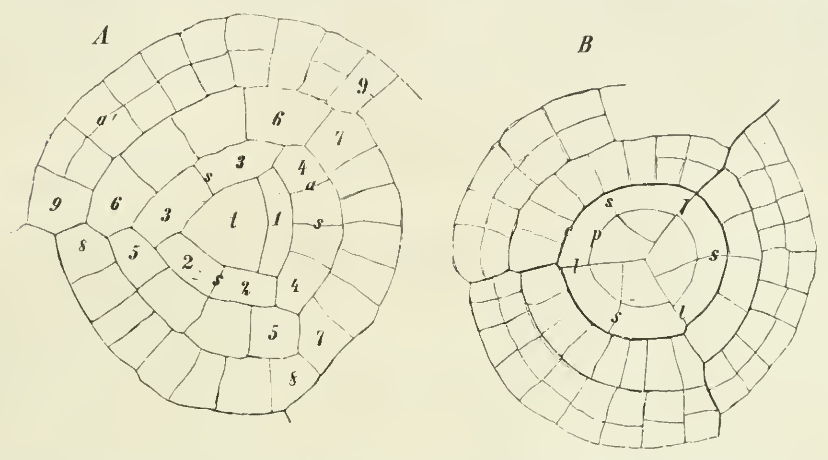


Fig. 166. Querschnitt durch die Wurzelspitze von Pteris cretica. Bei *A* Scheitelansicht des Wurzelkörpers, *t* Scheitelzelle, *1—9* aufeinanderfolgende Segmente, *s* Sextantenwände, *a* und *a'* antikline Wände. Bei *B* der Prokambiumzylinder, von den unter der Scheitelzelle liegenden Segmenten gebildet, umgeben von den emporgerichteten, äußeren Segmenten. *l* Seitenwände, *s* Sextantenwände, *c* Kambiumwand, *p* Perizykelwand. Vergr. 240.

Schnitte werden freilich nicht gleich beim erstenmal gelingen; es gilt hier, nicht nur Geschick, sondern auch viel Geduld zu zeigen. Die obenstehende Figur 166 *A* ist nach einem Querschnitt entworfen, der die Scheitelzelle streifte. Wir sehen die Grundfläche der Scheitelzelle (*t*) und die um diese Scheitelzelle angeordneten Segmente. Das jüngste Segment *1* ist noch ungeteilt; in den folgenden Segmenten *2* und *3* sieht man nur die Sextantenwand (*s*); in dem *4.* und *5.* Segment zeigt sich jeder Sextant durch eine antikline Wand halbiert. In den noch älteren Segmenten treten weitere Antikline hinzu, die aber nicht allein senkrecht, sondern auch parallel zu den Hauptwänden gerichtet sind (*a'*). Daß man in dieser Ansicht nur die antiklinen Wände zu sehen bekommen kann, leuchtet von selbst ein. Wird der Schnitt, der die Scheitelzelle zeigt, tiefer eingestellt, so treten die inneren Teile der unter der Scheitelzelle gelegenen Segmente in die Erscheinung. Ganze Segmente können wir bei einer Einstellung nicht übersehen, da, wie wir ja am Längsschnitt schon feststellten, diese Segmente schräg gestellt, ja knieförmig gebogen sind. Es treten uns somit nur die

Prokambiumteile der Segmente in annähernd gleicher Ebene im Bild entgegen, so wie sie in Figur *B* von den Kambiumwänden (*c*) umgrenzt sich zeigen. Umgeben werden sie von den älteren Segmenten, die wir in steil aufsteigender Lage, in einem der Außenwand fast parallelen, optischen Durchschnitt erblicken. In dem Prokambiumzylinder erkennen wir die Sextantenwände (*s*), die wir jetzt in ihrem ganzen, bogenförmig gekrümmten Verlauf verfolgen können, und die Perizykelwände (*p*), die nach außen den Perizykel von den inneren Teilen des Prokambiumzylinders trennen. Die Seitenwände (*l*) der aufeinanderfolgenden Segmente sind als schwach gebrochene Linien an dem Perizykel bis an die Peripherie des Bildes zu verfolgen.

Die Aufeinanderfolge der Scheidewände innerhalb der Segmente ist somit eine ganz bestimmte; der Wurzelkörper baut sich demgemäß regelmäßig auf und weist späterhin eine ähnliche Sonderung der Histogene auf, wie sie uns bei den Phanerogamen entgegentrat. Es macht daher den Eindruck, als wenn die Scheitelzelle nur eine Lücke in diesem Schichtensystem der Histogene sei.

XVIII. Abschnitt.

Vegetativer Aufbau der Bryophyten.

Untersuchungsmaterial.

Mnium undulatum, oder eine andere Mnium-Art, oder eine Bryum-Art. Sphagnum acutifolium, oder eine andere Sphagnum-Art. Alles frisch, bzw., falls frisches Material nicht zu erlangen ist, aufgeweichtes Herbarmaterial. Marchantia polymorpha, frisch.

Polytrichum. Metzgeria furcata.

Wichtigste Einbettungsmittel und Reagentien.

Glyzerin-Gummi. — Schwefelsäure.

Wir wenden uns nunmehr dem vegetativen Aufbau der Moose zu[1]), und beginnen mit einem Fall, in welchem die Differenzierung der Gewebe verhältnismäßig weit fortgeschritten erscheint: mit einem Sternmoos, Mnium undulatum. Wir führen zunächst zarte Querschnitte durch das Stämmchen aus (Fig. 167). In der Mitte des Stämmchens fällt uns ein Zylinder aus englumigen, dünnwandigen Zellen auf; er kann als sehr einfach gebautes „Leitbündel" gelten (*t*). Seine Elemente heben sich durch die gelbbraune Färbung ihrer Wand von der Umgebung ab. An dieses Leitbündel stoßen die weitlumigeren, mit grünlichgelben Wänden und lebendem, chlorophyllhaltigem Inhalt versehenen Zellen der Rinde (*c*). Die innerste Schicht dieser Rinde zeichnet sich durch größere Widerstandsfähigkeit gegen Schwefelsäure aus, ohne jedoch irgendwie scharf als eine Scheide abgesetzt zu sein. Die Rindenzellen nehmen zunächst von innen nach außen etwas an Weite zu, an der Peripherie werden sie rasch enger und dickwandiger und gehen endlich ohne Grenze in die ein- bis zweischichtige, englumige, stark verdickte Epidermis (*e*) über. An 2 bis 3 Stellen, unter Umständen auch nur noch an einer, sieht man die äußere Zellschicht des Stämmchens sich unmittelbar in einschichtige Zellplatten fortsetzen, die den am Stämmchen abwärtslaufenden Blattflügeln (*f*) entsprechen. Querschnitte, die durch den unteren, blattlosen, stark gebräunten Teil des Stämmchens geführt werden, zeigen die Wände der peripherischen Zellschichten dunkelbraun gefärbt. Aus einzelnen Zellen der Oberfläche sind lange, braunwandige,

[1]) Für Laubmoose vgl. P. G. LORENTZ, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. VI, 1867—68, S. 363; K. GOEBEL, Grundriß d. Systematik u. spez. Pflanzenmorphologie, 1882, S. 184; dort auch die Literatur; ferner G. FRITSCHE, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. I, 1882, S. 83; G. HABERLANDT, Ebenda, S. 263, und 1884, S. 467; FR. OLTMANNS, Über die Wasserbewegung in der Moospflanze, 1884; G. HABERLANDT, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XVII, 1886, S. 359; E. BASTIT, Rev. gén. de Bot., T. III, 1891, S. 255; R. COESFELD, Bot. Ztg., L. Jahrg., 1892, Sp. 153; A. G. TANSLEY and E. CHICK, Ann. of Bot., Vol. XV, 1901, S. 1.

vielfach verzweigte Zellfäden hervorgewachsen, die als Rhizoiden bezeichnet werden (*r*). Diese Rhizoiden sind durch schräggestellte Scheidewände ausgezeichnet. Unter zahlreichen solchen Scheidewänden, und zwar unter deren emporgehobenem Rand, entspringen weiter sich verzweigende Seitenzweige. Nur die fortwachsenden Spitzen der Rhizoiden weisen farblose Wände auf.

Die größte Ähnlichkeit mit solchen Rhizoiden zeigt in Hinsicht auf Verzweigung und schräge Stellung der Scheidewände der „Vorkeim" der typischen Laubmoose, das sog. Protonema, das sich aus der keimenden Spore entwikkelt. Doch sind dessen Zweige, soweit sie nicht in den Boden dringen, nicht gebräunt und führen zahlreiche Chlorophyllkörner. Die Knospen, die sich zu den Stämmchen solcher Laubmoose entwickeln, sind Seitenzweige dieses Protonemas. Die nahe Verwandtschaft von Rhizoiden und Protonema zeigt sich auch in dem Umstand, daß die Rhizoiden, feucht gehalten und dem Licht ausgesetzt, Protonema erzeugen können, das zahlreichen neuen Pflänzchen den Ursprung zu geben vermag. Es genügt, Mniumrasen mit der Unterseite nach oben zu legen und feucht zu halten, um reichlichen, grünen Protonemafilz aus den Rhizoiden zu erzielen.

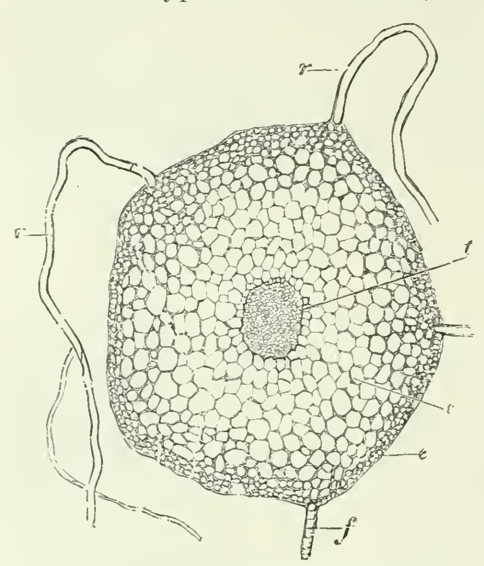


Fig. 167. Querschnitt durch das Stämmchen von Mnium undulatum. *t* Leitbündel; *c* Rinde; *e* Epidermis; *f* Blattflügel; *r* Rhizoiden. Vergr. 90.

Hat der Querschnitt eine beschädigte Stelle des Mnium-Stämmchens getroffen, so kann man feststellen, daß diese nicht durch Kork abgeschlossen ist, denn solchen vermögen die Bryophyten und auch fast sämtliche Gefäßkryptogamen nicht zu bilden; es haben vielmehr die an die Wunde grenzenden Zellen ihre Wände so verdickt und gebräunt, daß sie in dieser Beziehung den anderen Zellen der Oberfläche gleichen.

Nahe der Oberfläche zeigt der Querschnitt vereinzelte kleine Stränge dünnwandiger Zellen, die auch in ihrer Färbung mit dem zentralen Leitbündel übereinstimmen. Es sind das aus den Blättern eintretende Leitbündel, die bei Mnium blind in der Stengelrinde endigen, während sie bei den vollkommener ausgestalteten Haarmoos (Polytrichum)-Arten bis zum axilen Leitbündel des Stengels laufen und sich mit ihm vereinigen. — Ein Blatt, das wir ohne weitere Präparation in einem Wassertropfen des Objektträgers untersuchen, zeigt uns eine einschichtige Lamina und einen mehrschichtigen Mittelnerv. Dieser endet unter einem terminalen Zahn, der aus einer Anzahl rhombischer Zellen besteht. Die Zellen der Blattnerven sind

lang gestreckt, die peripherischen führen Chlorophyllkörner. Die einschichtige Blattlamina besteht aus polygonalen, chlorophyllhaltigen Zellen. Die bandartige Umsäumung ihres Randes wird von langgestreckten, stärker verdickten Zellen gebildet. Die äußersten am Rand tragen, in annähernd gleichen Abständen, ein- bis zweizellige, scharf zugespitzte Zähne. Querschnitte durch die Blätter bekommt man zugleich mit den Querschnitten durch das Stämmchen. Will man von abgetrennten Blättern Querschnitte ausführen, was bei ihrer geringen Dicke keine ganz leichte Aufgabe ist, so kann man sich die Sache wesentlich erleichtern, wenn man mit Glyzerin-Gummi eine größere Anzahl Blätter aufeinander klebt und hierauf erst, ohne das Trocknen des Gummis abzuwarten, den ganzen Komplex zwischen Holundermark schneidet. Dann legt man die Querschnitte in Wasser, worin das Gummi alsbald gelöst wird. Diese Methode läßt sich überall da anwenden, wo es gilt, von sehr dünnen Objekten Querschnitte zu gewinnen. — An den Querschnitten unserer Moosblätter stellen wir nun mit Sicherheit fest, daß die Lamina einschichtig ist, ferner die Zellen am Blattsaum stark verdickt sind. Der Nerv springt an der Unterseite stärker als an der Oberseite hervor. In dessen Mitte, etwas näher der Unterseite, liegt ein Strang dünnwandiger Zellen, in dem wir das Leitbündel wiedererkennen, das wir zuvor nach seinem Eintritt in die Rinde sahen. Dieser dünnwandige Strang wird nach der Rückenfläche zu von einigen stark verdickten, englumigen Zellen gestützt.

Ein welkes Pflänzchen mit dem unteren Querschnitt seines Stämmchens in Wasser gesetzt, bleibt welk, wird hingegen rasch turgeszent, wenn wir es mit den Blättern in Wasser tauchen. Die Wasseraufnahme wird eben bei den Moosen hauptsächlich durch die oberirdischen Teile vollzogen, während die Rhizoiden vornehmlich zur Befestigung im Boden dienen[1]).

Den höchsten Grad der Gewebesonderung finden wir unter den Bryophyten bei der Gattung Polytrichum[2]). Dabei ist die Anordnung der Gewebeelemente in den Rhizomen hier eine andere als im beblätterten Stämmchen. Die eine Struktur geht allmählich in die andere über, wenn man sie aus dem Rhizom in das beblätterte Stämmchen verfolgt. Das Rhizom zeigt im besonderen einen scharf abgesetzten Zentralzylinder. Im Rhizom wie im beblätterten Stämmchen lassen sich neben wasserleitenden eiweißreiche und stärkehaltige Elemente unterscheiden. Doch ist eine strenge Scheidung in zweierlei verschiedene Elemente nicht durchzuführen[3]). Aus den Blättern treten Leitbündel in das Stämmchen ein, die an den Zentralzylinder ansetzen. Die Blätter von Polytrichum sind dadurch ausgezeichnet, daß sie auf ihrer Lamina verhältnismäßig hohe Leisten tragen, die dicht aneinandergereiht der Längsrichtung des Blattes

---

[1]) Nach K. SCHOENE, Flora, Bd. XCVI, 1906, S. 276 ff., soll den Rhizoiden bei bestimmten Laubmoosen eine mehr oder minder hohe ernährungsphysiologische Bedeutung zukommen.

[2]) A. G. TANSLEY and E. CHICK, l. c. 1901; nähere Angaben über den Bau dieser Moose u. a. in W. LORCH, Abh. d. Kgl. Bayr. Akad. d. Wiss., München, Bd. XXIII, 1908, S. 448; ferner Derselbe, Flora, Bd. CI, 1910, S. 373, und Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXIX, 1911, S. 590, und WAENKER VON DANKENSCHWEIL, Dissert. Freiburg i. Br., 1915.

[3]) Nach R. STRUNK, Dissertation, Bonn, 1914.

folgen. Sie bestehen aus chlorophyllhaltigen Zellen, die das assimilierende Gewebe vorstellen, dabei in den Zwischenräumen Wasser leiten und festhalten. Bei Trockenheit faltet sich das Blatt mittels Kohäsionsmechanismus zusammen und legt sich dem Stamm dicht an, wodurch ein guter Schutz gegen übermäßige Transpiration bewirkt wird[1]).

Besondere Eigentümlichkeiten bietet der Bau der Torfmoose, die auch im Winter unschwer zu beschaffen sind, da sie zu gärtnerischen Zwecken in den Gewächshäusern vielfach Verwendung finden. Wir führen Querschnitte durch das Stämmchen von Sphagnum cymbifolium oder acutifolium aus. Diese Quer-

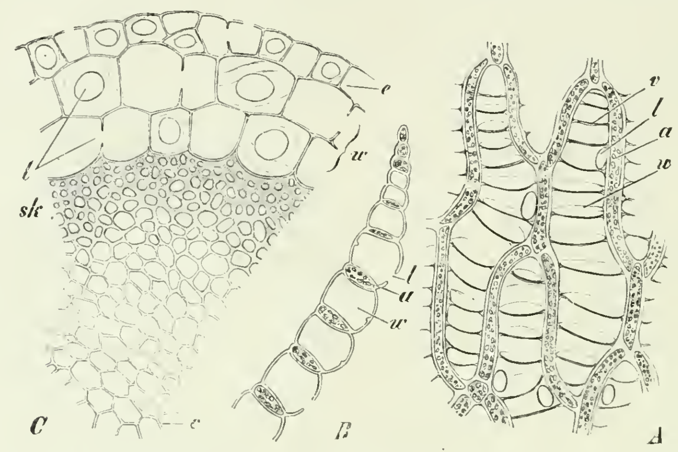


Fig. 168. *A* Zellen aus einem Blatt von Sphagnum cymbifolium. *a* chlorophyllhaltige Zellen, *w* Wasserzellen mit Verdickungsleisten *v* und Löchern *l*, von der Fläche. Vergr. 300 *B* Querschnitt durch ein Blatt von Sphagnum fimbriatum. *C* Teil eines Querschnitts durch den Stengel von Sphagnum cymbifolium. *c* Mitte, *sk* sklerenchymatische Rindenzellen, *w* Wasserzellen mit Löchern *l* und Verdickungsleisten, *e* Epidermis. Vergr. 120.

schnitte (Fig. 168) zeigen uns einen inneren Gewebezylinder, der in seinen mittleren Teilen aus weitlumigen, etwas kollenchymatisch verdickten Zellen aufgebaut wird, während nach außen zu seine Zellen allmählich enger werden und sich in den äußersten Lagen gelbbraun färben (*sk*). Ein besonderes Leitbündel ist im Innern dieses Gewebezylinders nicht vorhanden. Nach außen wird er von einer großzelligen meist dreischichtigen Außenrinde umgeben ($w + e$). Deren Zellen schließen unvermittelt an die englumigen, gelbbraunen Zellen des inneren Gewebezylinders an. Sie sind durch große, kreisrunde bis ovale, offene Poren und zarte Schraubenbänder ausgezeichnet. Die Löcher (*l*) lassen sich leicht erkennen, und man stellt an Schnittstellen, die solche Poren getroffen haben, unschwer fest, daß sie wirklich die Hohlräume dieser Zellen in offene Verbindung setzen. Auch sieht man nicht selten in diesen Zellen Pilzfäden oder kleine Tiere, die ohne Hindernis durch die Poren aus einer Zelle in die andere vordringen. Diese porösen Elemente von Sphagnum führen nur noch Wasser oder Luft und sind ohne lebenden Zellinhalt. Sie dienen der Pflanze als Kapillarapparate, durch die das Wasser den Verbrauchsorten zugeführt wird.

[1]) C. Steinbrinck, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXVIII, 1910, S. 19 u. 549.

Die Blattspreite ist eiförmig, ganzrandig, einschichtig und besteht, wie jede Flächenansicht lehrt, aus zweierlei Elementen. Die einen sind schmale, chlorophyllhaltige, somit auch Zytoplasma und Kern führende, lebende Zellen; die anderen sind tote, mit Wasser oder mit Luft erfüllte, mit Ringen bzw. Schraubenbandstücken und zwischenliegenden, offenen Poren versehene Zellräume. — Die Tatsache, die uns schon wiederholt auffallen mußte, daß tote, wasserführende Elemente, soweit sie sonst nicht stark verdickt sind, Schraubenbänder, Ringe oder Netze als Wandverdickung tragen, erklärt sich ungezwungen aus dem Umstand, daß genannte Zellen ihres Turgors beraubt sind und diesen mechanischen Apparat brauchen, um nicht zu kollabieren oder zerdrückt zu werden. — Alle grünen Zellen der Blattspreite hängen untereinander zusammen und bilden ein Netzwerk, dessen Maschen von je einer toten Zelle eingenommen werden. Die grünen Zellen dienen der Kohlenstoffassimilation, die leeren Zellen sorgen, ebenso wie die entsprechenden Zellen der Außenrinde des Stämmchens, als Kapillarapparat für die Wasserzufuhr. Aufmerksame Betrachtung lehrt, daß die Zahl der Poren gegen den Blattrand zunimmt, daß die Poren vorwiegend an der Unterseite des Blattes sich befinden und die Seite der dort sich vorwölbenden Zellwände einnehmen. Der Blattrand selbst wird gebildet von den schmalen, grünen Zellen und im Anschluß an diese von einem einreihigen Saum schmaler, an der Außenfläche schwach verdickter, kollabierter, wässrigen Inhalt führender Elemente. Nur die Endflächen dieser Elemente zeigen sich stärker verdickt und springen demgemäß nach außen vor. Ein Nerv fehlt den Blättern ebenso wie ein Leitbündel dem Stämmchen; die Pflänzchen sind somit in dieser Beziehung viel einfacher als Mnium gebaut, komplizierter hingegen in Hinblick auf die Ausbildung ihres Kapillarapparates. Querschnitte (Fig. 168 *B*) belehren uns weiter über das Lagenverhältnis der lebenden (*a*) und der toten (*w*) Blattzellen, zeigen uns auch die Löcher (*l*) in letzteren sehr schön[1]).

Zellulosereaktion ist an den Zellhäuten der Muscineen erst nach Kochen in Natronlauge zu erlangen. Sehr häufig geben sie die Millonsche Reaktion, und zwar mit kirschrotem Farbenton, ferner mit Eisenchlorid die schwarzgrüne, auf Gerbstoff hinweisende Eisenreaktion. Die Substanz, welche die Millonsche Reaktion gibt, ist eine phenolartige Verbindung „Sphagnol“[2]), die sich besonders reichlich aus Sphagnum und Trichocolea tomentella isolieren läßt, sehr giftig ist und wohl als Schutzstoff wirkt. Auch eine gerbstoffähnliche Verbindung „Dicranum-Gerbsäure“ ist in den Membranen der Muscineen sehr verbreitet. Das Sphagnol scheint in chemischer Bindung in den Zellwänden enthalten zu sein, aller Wahrscheinlichkeit nach auch die Dicranum-Gerbsäure. Die Membranen von Sphagnum zeichnen sich durch ihren Reichtum an Pektinstoffen aus, die sich durch starke Natronlauge extrahieren lassen und allem Anschein nach die Stoffe (quellbare Kolloide) darstellen, auf die sowohl die Säurewirkungen von Torf, wie von lebenden Sphagnumpflanzen zurückzuführen sind[3]). Die Zell-

---

[1]) Vgl. dazu auch W. Lorch, Flora, Bd. LXXXIX, Ergbd. 1901, S. 447.

[2]) Fr. Czapek, Flora, Bd. LXXXVI, 1899, S. 361.

[3]) Vgl. A. Baumann und E. Gully, Mitteil. d. Kgl. Bayr. Moorkulturanstalt, Stuttgart 1910, S. 32 ff., und das Referat hierüber von Fr. Czapek, Zeitschr. f. Bot., III. Jahrg., 1911, S. 415; s. a. J. Ibele, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXI, 1913, S. 75.

wände im Protonema verschiedener Laubmoose unterscheiden sich dadurch von den sonstigen Zellhäuten der Muscineen, daß sie stets direkt, ohne vorherige Behandlung mit Natronlauge, Zellulosereaktion geben und nie Sphagnol oder Gerbsäure enthalten.

Der Thallus des auf feuchtem Boden sehr verbreiteten, an seinen runden Brutbechern, evtl. auch an den tellerförmigen oder schirmartigen Rezeptakeln gut kenntlichen, im Gewächshaus leicht überwinternden gemeinen Lebermooses, Marchantia polymorpha, zeigt einen ziemlich komplizierten Bau. Der Mangel einer kormophyten Gliederung bedingt nicht notwendig eine einfache, anatomische Struktur. Der Thallus ist lederartig hart; er verzweigt sich durch Gabelung seiner Scheitel, die im Grunde der „Scheitelbuchten" liegen. Hat sich der Sproß kurz zuvor gegabelt, so wird die Mitte der vorderen Einbuchtung von einem Thalluslappen eingenommen, zu dessen beiden Seiten die Scheitelbuchten liegen. In der Mediane jedes Sprosses springt an der Bauchseite eine undeutlich begrenzte Mittelrippe vor. Von dieser aus verlaufen schräg nach vorn gerichtete Streifen bogig gegen den Rand des Thallus. In einiger Entfernung vom Scheitel ist der Thallus durch feine, aus seiner Mediane entspringende Rhizoiden an dem Substrat befestigt. Bringen wir den Thallus, mit der Bauchseite nach oben gekehrt, unter ein Präparier-Mikroskop, so können wir mit Hilfe von Nadeln die Existenz von Schuppen feststellen, die der Thallusfläche entspringen. Es sind hier drei verschiedene Formen von Ventralschuppen vorhanden: „Randschüppchen", die über den Thallusrand meist etwas hinausreichen und gebräunt sind; mit Anhängseln versehene „Medianschuppen", die in der Mittellinie stehen, und „Laminarschuppen", die zu beiden Seiten der Mittellinie auf dem Thallus sitzen, auch fehlen können. Die Medianschuppen, öfters purpurfarbig, alternieren miteinander; ihre Ränder decken sich in der Mediane. Soweit Median- und Laminarschuppen, bzw. nur erstere reichen, entspringen dem Thallus feine Rhizoiden, die von den Schuppen gedeckt, deren Ansatzstellen folgen, bis zum Mittelnerv gelangen und hier in Bündeln weiter abwärts laufen. Die Median- und Laminarschuppen sind es, welche der Thallusunterseite die Streifung verleihen, die uns an ihr schon bei Betrachtung mit dem bloßen Auge aufgefallen war. — Sehen wir uns die Rückenfläche des Thallus mit der Lupe an, so erscheint sie uns in kleine, rautenförmige Felder geteilt. Die Grenzen der Felder sind dunkelgrün, die Felder selbst mehr grau. In der Mitte eines jeden Feldes ist eine punktförmige Öffnung vorhanden. — Wir untersuchen hierauf einen Flächenschnitt, der parallel zum Thallusrücken geführt worden ist, bei stärkerer Vergrößerung. Wir sehen, daß die Außenzellen der Rückenfläche polygonal gestaltet und fest verbunden sind. Sie führen zahlreiche große Chlorophyllkörner. Die Grenzen der Felder zeichnen sich deutlich; in der Mitte jedes Feldes befindet sich eine runde Öffnung, die von meist vier schmalen, sichelförmig gekrümmten, chlorophyllfreien Zellen umrahmt ist (Fig. 169 *A*). Wo der Schnitt etwas dicker ausfiel, zeigt sich unter der freien Außenfläche des Feldes Luft angesammelt. In den diese enthaltenden Raum, die „Luftkammer", ragen chlorophyllhaltige Zellfäden hinein. Die seitlich die Luftkammern abgrenzenden Mauern werden aus dicht

verbundenen Zellen aufgebaut. Sie sind ein- bis mehrschichtig; ihre Zellen führen Chlorophyll. Einzelne Zellen an der Oberfläche und auch im Innern des Thallus zeichnen sich durch einen stark lichtbrechenden, unregelmäßig umschriebenen Körper aus. Diese Körper erscheinen an jüngeren Sprossen schwach bräunlich, an älteren braun gefärbt, bestehen vorwiegend aus fettem und ätherischem Öl und bilden die sog. Ölkörper[1]), die bei den Lebermoosen allgemein verbreitet sind. — Flächenschnitte, die uns den Thallus von der Bauchseite vorführen, weisen keine Felderung auf. Die Zellen sind hier gestreckter und chlorophyllärmer als an der Oberseite. Zweierlei Arten von Rhizoiden[2]) entspringen der Bauchfläche. Die einen sind schmächtiger und mit

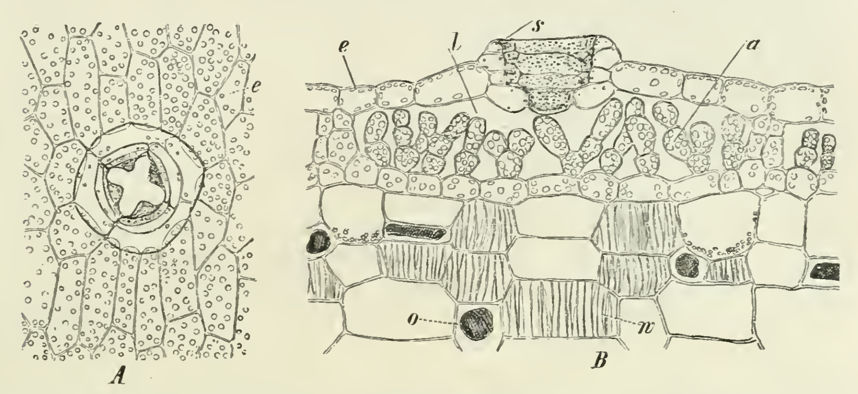


Fig. 169. Marchantia polymorpha. *A* Die Öffnung einer Luftkammer von oben, *B* eine Luftkammer im Querschnitt, *e* Epidermis, *l* Luftkammer, *a* Assimilationszellfäden, *o* Ölkörper, *w* großzelliges Wassergewebe, *s* Saum der obersten Öffnungszellen. Vergr. 240.

zapfenförmigen Vorsprüngen im Innern versehen, die anderen sind dicker und ohne solche Vorsprünge. Die mit den zapfenförmigen Vorsprüngen versehenen, die „Zäpfchenrhizoiden", liegen dem Thallus an und folgen in Bündeln, von den Schuppen gedeckt, dem Mittelnerv. Sie fördern anscheinend die Wasserzufuhr zu den jüngeren Thallusteilen. Die gewöhnlichen Rhizoiden wenden sich unter spitzem Winkel gleich gegen das Substrat, um an ihm den Thallus zu befestigen. Alle Ventralschuppen sind einschichtig; die medianen bestehen aus bereits abgestorbenen Zellen. Sie zeichnen sich durch den Besitz von Ölkörperzellen und kleineren nach der Thallusseite hin zu Zäpfchenrhizoiden auswachsenden „Rhizoidursprungszellen" aus[3]). — Ein Querschnitt durch den Thallus zeigt an der Rückenfläche zunächst eine Zone chlorophyllhaltigen Gewebes. Das Innere des Thallus wird von weitlumigeren, meist chlorophyllfreien Zellen gebildet, die als wasserspeichernde Elemente anzusprechen sind. Ihre Wände

[1]) W. Pfeffer, Flora, Bd. LVII, 1874, S. 2; W. v. Küster, Diss., Basel 1894; vgl. auch A. J. M. Garjeanne, Flora, Bd. XCII, 1903, S. 457; ferner C. E. Jul. Lohmann, Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. XV, 1903, S. 243, und K. Müller, Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. XLV, 1905, S. 299.

[2]) Vgl. dazu V. Schiffer, Ann. Jard. bot. Buitenzorg, 3. Suppl., 2. Part, 1910, S. 473 ff.

[3]) Vgl. C. Warnstorf, Hedwigia, Bd. XL, 1901, S. 132, und F. Quelle, Hedwigia, Bd. XLI, 1902, S. (176).

weisen vorzüglich in älteren Teilen des Thallus flache Verdickungsbänder auf, die senkrecht zur Thallusfläche verlaufen. An der Bauchfläche werden die beiden letzten Zellschichten wieder englumiger, flacher, chlorophyllreicher und bilden die sog. ventrale Rindenschicht. Neben den die Ölkörper führenden Zellen fallen andere vereinzelte Zellen durch ihre Größe und die starke Lichtbrechung ihres Inhalts auf; es sind das Schleimzellen. Ein genaueres Studium der chlorophyllreichen Außenschichten der Rückenfläche ergänzt das Bild, das wir in der Flächenansicht gewonnen hatten. Wir sehen zu äußerst eine einfache Schicht flacher Zellen, die über den Luftkammern frei ausgespannt ist und auf den Grenzmauern zwischen ihnen ruht. Über der Mitte einer jeden Luftkammer befindet sich in der freien Außenschicht die Öffnung, die von meistens vier Stockwerken zu je 4 Zellen eingefaßt wird (Fig. 169 *B*). Die Zellen der 3 oberen Stockwerke schließen zu 3 übereinander angeordneten Ringen zusammen und lassen so eine runde Öffnung zwischen sich. Die Zellen des obersten Stockwerks laufen in einen häutigen Saum aus. Die Zellen des untersten Stockwerks haben nach innen zu je einen weit vorspringenden stumpfen Fortsatz; diese Fortsätze können sich in extremen Fällen nahezu berühren. Sie tragen zum Abschluß der Atemhöhle gegen die Außenwelt wirksam bei. Das Eindringen von Wasser in die tonnenförmige Öffnung wird durch körnige Harzausscheidungen auf ihren Wänden verhindert. Da so die Luft lange Zeit in der Atemöffnung des Präparats festgehalten wird, empfiehlt es sich, sie zuvor auszupumpen. In die Luftkammer ragen von unten her zwei bis drei Zellen hohe, hin und wieder verzweigte Zellfäden hinein[1]). Diese Zellfäden sind besonders chlorophyllreich; sie entspringen der nächst tieferen, chlorophyllarmen, flachen Zellschicht. Ihnen fällt vor allem die Aufgabe der Kohlenstoffassimilation im Thallus zu. An der Ventralseite des Thallus sieht man am Mittelnerv das seitliche, alternierende Übereinandergreifen der Medianschuppen. Zwischen den Schuppen liegen die Querschnitte der Rhizoidenbündel. — Mediane Längsschnitte zeigen die Insertion der stärkeren, vom Thallus abstehenden Rhizoiden und die dem Mittelnerv anliegenden Zäpfchenrhizoiden. An sonnigen Stellen erwachsene Marchantien haben weit mehr Luftkammern als solche schattiger Standorte aufzuweisen. Vielfach beherbergen die Lebermoose, Jungermanniaceen wie Marchantiaceen, Pilzfäden u. a. von Mucor rhizophilus in den der Mittelrippe parallel verlaufenden Zellreihen und Rhizoiden. In frischen Schnitten, die mit verd. Hämatoxylin behandelt werden, treten die Pilze schön blau gefärbt hervor[2]).

Ein sehr einfach gebauter Thallus ist der von Metzgeria furcata[3]). Er ist in vielen Beziehungen sehr lehrreich. Das unscheinbare Pflänzchen ist ziemlich verbreitet und an der Rinde von Laubhölzern meist unschwer zu entdecken. Der Thallus ist bandförmig, hellgrün, gabelig geteilt, von einer mit dem bloßen Auge eben noch unterscheidbaren Mittelrippe durch-

---

[1]) Über die Abhängigkeit ihrer Stellung gegenüber der Lichtrichtung vgl. J. Liese, Beitr. z. allgemeinen Bot., herausg. v. G. Haberlandt, Bd. II, 1922, S. 334

[2]) M. Golenkin, Flora, Bd. XC, 1902, S. 209; A. J. M. Garjeanne, Flora, Bd. CII, 1911, S. 147 u. A.

[3]) H. Leitgeb, Untersuchungen über die Lebermoose, H. 3, 1877, S. 34.

setzt. Abgesehen von dieser Mittelrippe ist, wie man unter dem Mikroskop leicht feststellen kann, der Thallus einschichtig. Er besteht aus polyëdrischen, reich mit länglichen Chlorophyllkörnern erfüllten Zellen. Die schmale Mittelrippe springt an der Bauchfläche viel stärker als an der Rückenfläche vor; sie besteht, was man bei verschiedener Einstellung feststellen kann, von oben nach unten fortschreitend, aus breiten, nur wenig gestreckten, dann aus schmalen, langgestreckten und endlich wieder aus breiteren Zellen. Die beiden äußeren Zellagen führen Chlorophyll, die inneren hingegen nicht. Am Vegetationspunkt entspringen aus der Bauchfläche der Nerven einige wenige kurze, in ihrem vorderen Ende mit stark lichtbrechendem Inhalt erfüllte Keulenhaare. Aus älteren Teilen der Nerven bzw. auch aus den Randzellen des Thallus gehen die sog. Borstenhaare hervor, die unter günstigen Umständen an ihrer Spitze zu einer

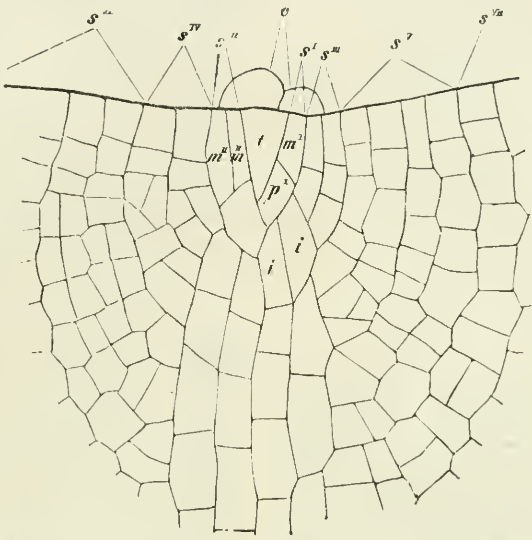


Fig. 170. Sproßscheitel von Metzgeria furcata. *t* Scheitelzelle, s^{I}—s^{VII} aufeinanderfolgende Segmente, m^{I} Randzelle ersten, m^{II} zweiten Grades, p^{I} Flächenzelle ersten Grades, *ii* Innenzellen des Mittelnervs, *c* Keulenhaare. Das Bild bei Einstellung in die inneren Nervenzellen gezeichnet. Vergr. 540.

gelappten Haftscheibe sich ausbilden können und dann als Rhizoiden fungieren. Sie stehen stets an dem hinteren, vom Scheitel abgekehrten Ende der Zelle, von der sie durch eine gekrümmte Scheidewand abgegrenzt werden, die nicht die ganze Höhe der betreffenden Zelle durchsetzt, vielmehr nur eine Ecke oder Kante von dieser abschneidet. — Wie der Querschnitt zeigt, sind die inneren Zellen der Mittelrippe durch etwas stärker verdickte, fast kollenchymatisch aussehende, weißglänzende Wände ausgezeichnet. — In der instruktivsten und leichtesten Weise sind bei Metzgeria die Teilungsvorgänge an den Vegetationspunkten zu verfolgen[1]. Der fortwachsende Scheitel zeigt bei Metzgeria eine relativ nur sehr schwache Ausbuchtung. Der Grund dieser „Scheitelbucht", genau an der Stelle, wo der Mittelnerv aufhört, wird von der Scheitelzelle eingenommen.

[1]) Vgl. L. Kny, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. IV, 1865—66, S. 85. Betreffs der gleichen Vorgänge bei Laubmoosen vgl. E. M. Merl, Flora, Bd. CIX, 1917, S. 189 ff.

Wir betrachten diese von der Rückenfläche des Thallus aus, um nicht durch die Keulenhaare gestört zu werden. Die Scheitelzelle ist zweischneidig (Fig. 170), sie zeigt die Gestalt eines gleichschenkligen Dreiecks, mit nach vorn gerichteter, meist etwas konvexer Grundfläche und schwach gebogenen Seitenwänden. Sie teilt sich durch Wände, die einer ihrer Seitenwände parallel sind, und gibt so abwechselnd nach rechts und links Segmente (*s*) ab, die somit alle in einer Ebene liegen.

Jedes Segment zerfällt durch eine dem Rand des Thallus parallele, perikline Wand in eine Randzelle ersten Grades (m^{I}) und eine „Flächenzelle“ ersten Grades (p^{I}). Die Randzelle ersten Grades teilt sich hierauf durch eine zum Thallusrand senkrechte, antikline Wand in zwei gleiche Randzellen zweiten Grades (m^{II}, m^{II}). In letzteren wiederholen sich die Teilungen durch Perikline (im Segment s^{III}). Die Flächenzelle ersten Grades zerfällt hingegen durch eine zur Thallusfläche parallele Wand, die wir somit nicht sehen können, in eine rückständige und eine bauchständige Zelle. In letzterer wiederholt sich derselbe Teilungsvorgang, bis die 4—5 Stockwerke des Nervs gebildet sind. Der ganze Nerv ist somit auf die Flächenzellen des ersten Grades zurückzuführen. Die durch Teilung der Flächenzellen gebildeten Außenzellen verhalten sich anders als die Innenzellen. Während erstere sich nämlich zunächst senkrecht zur Längsachse des Thallus teilen, teilen sich letztere parallel zu dieser Achse. Dieses Verhalten fällt leicht in die Augen; unsere Figur ist aber bei Einstellung auf die oberste Schicht der Innenzellen (*ii*) dargestellt. Jede

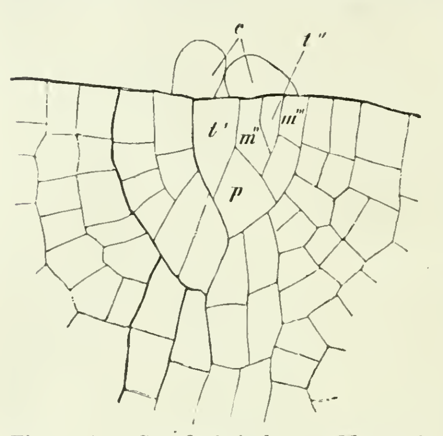


Fig. 171. Sproßscheitel von Metzgeria furcata. Anlage einer neuen Scheitelzelle. *t'* die ältere Scheitelzelle, *t''* die neue, *p* Flächenzelle ersten Grades, *m''* Randzelle zweiten, *m'''* dritten Grades, *c* Keulenpapillen. Das Bild bei Einstellung auf die inneren Zellen des Mittelnervs gezeichnet. Vergr. 540.

Flächenzelle ersten Grades bildet gleich nach ihrer Anlage an der Bauchseite ein Keulenhaar (*c*). Dieses krümmt sich mit seinem Ende aufwärts und hat alsbald seine volle Entwicklung erreicht. — Bei Betrachtung des dargestellten Zellnetzes muß uns aber von neuem auffallen, daß es, von den Störungen abgesehen, die das stärkere Wachstum des Mittelnervs bedingt, auf zwei Systeme konfokaler Parabeln sich zurückführen läßt. — Nach einigem Suchen finden wir auch Sprosse, die den ersten Anfang der Endverzweigung zeigen (Fig. 171). Wir können sie bis auf die Anlage der neuen Scheitelzelle zurückführen. Es liegt hier nicht eine Gabelung der älteren Scheitelzelle vor, vielmehr die Bildung einer neuen aus dem jüngsten oder einem der jüngsten Segmente. In dem in Figur 171 dargestellten Fall hat das jüngste Segment relativ bedeutende Breite gewonnen, die Flächenzelle ersten Grades gebildet und seine Randzelle ersten Grades in zwei Randzellen zweiten Grades zerlegt, hierauf in der der Scheitelzelle näheren Randzelle zweiten Grades durch eine sanft geneigte, an die Halbierungswand der Randzelle ersten Grades ansetzende Wand

eine neue Scheitelzelle (t'') gebildet. Diese würde hierauf wie die ältere Scheitelzelle und in derselben Ebene Segmente gebildet haben. Der Vergleich junger Gabelungszustände zeigt uns, daß der neue Sproß den Muttersproß zur Seite drängt und alsbald diesem völlig gleichwertig erscheint. Im Hinblick auf den Ursprung der neuen Scheitelzellen wäre diese Gabelung immerhin nur als eine falsche zu bezeichnen, während wir in der Tat Beispiele bei Algen kennen, wo die Scheitelzelle wirklich halbiert wird und zwei neue Scheitelzellen aus ihr hervorgehen. — Außer dieser normalen Endverzweigung wird uns bei Metzgeria furcata hier und da auch die Bildung von Sprossen aus dem Mittelnerv, und zwar sowohl vegetativer, als auch geschlechtlich differenzierter, außerdem auch die Bildung von Adventivästen aus Randzellen des Thallus begegnen. Die geschlechtlichen Sprosse nehmen die Gestalt helmartig gekrümmter Blättchen an, welche die Geschlechtsorgane schützen.

XIX. Abschnitt.

Vegetativer Aufbau der Pilze, Flechten und Algen.

Zellkerne der Pilze. Härtung und Färbung des Zellinhalts. Schlauchhyphen. Einschlüsse der Pilzzellen. Zusammensetzung und Reaktion der Pilzmembran. Chitin- bzw. Chitosan-Reaktion. Nachweis des Myzels parasitischer Pilze im Gewebe der Nährpflanze. Flechtenstoffe. Härtungs- und Färbungsmittel für Algen. Kultur von Algen. Plasmolyse. Lebenszähigkeit der Hautschichten. Entwässerung der Präparate ohne Schrumpfung. Membranfärbungen an lebenden Algen. Gallertscheiden der Algen und deren Färbungen. Membranbildung im plasmolysierten Zellinhalt bei Zygnema. Bewegung der Desmidiaceen. Fixierung und Färbung von Desmidiaceen-Keimlingen. Kultur kleiner Algen und anderer kleiner Organismen auf dem Objektträger. Herstellung von Dauerpräparaten sehr kleiner Objekte. Richten, Einbetten und Schneiden sehr kleiner Objekte.

Untersuchungsmaterial.

Psalliota campestris, frisch oder in Alkohol. — Anaptychia ciliaris, frisch oder aufgeweicht. — Cladophora glomerata oder eine andere Cladophora-Art. Spirogyra majuscula oder eine andere Spirogyra-Art mit zentralem Zellkern. Die genannten Algen frisch oder mit 1-proz. Chromsäure fixiert und in Wasser, dem Kampferstückchen zugesetzt wurden, aufbewahrt.

Psalliota arvensis. Amanita-Arten. Xanthoria parietina. Spirogyra orthospira. Zygnema-Arten. Closterium moniliferum. Cosmarium Botrytis. Keimlinge von Desmidiaceen. Alle diese Objekte frisch; Psalliota arvensis, frisch und als Alkohol-Material; Xanthoria, frisch oder aufgeweicht.

Wichtigste Reagentien und Einschlußmittel.

Chlorzinkjodlösung. — Jodjodkaliumlösung. — Pikrin-Alkohol. 1-proz. Chromsäure, oder konz. Pikrinsäure, oder 1-proz. Chrom-Essigsäure, oder 1-proz. Chrom-Osmium-Essigsäure. — GRENACHERsches Boraxkarmin oder P. MAYERsches Parakarmin; P. MAYERsches Hämalaun; Hämatoxylin-Kristalle. — 1-proz. Alaunlösung. — ½-proz. bis 1-proz. Salzsäurelösung. — Ammoniak. — Glyzerin, Glyzerin-Gelatine oder HOYERsche Einschlußflüssigkeit für Karmin-Präparate. — Kanadabalsam.

Die Vegetationsorgane der Pilze bestehen, falls von einer Anzahl einfachster Formen abgesehen wird, aus fadenförmig gestreckten, mehr oder weniger reich verzweigten Elementen, den Hyphen. Diese sind entweder ohne Scheidewände, ihrer ganzen Ausdehnung nach unseptiert, oder durch Scheidewände in eine Reihe aufeinander folgender Abschnitte gegliedert. Auch der massivste Pilzkörper wird aus solchen, dann miteinander verflochtenen Hyphen gebildet. Die Hyphen können in manchen Fällen zu so fester gegenseitiger Vereinigung gelangen, daß ein Gewebe zustande kommt, welches das

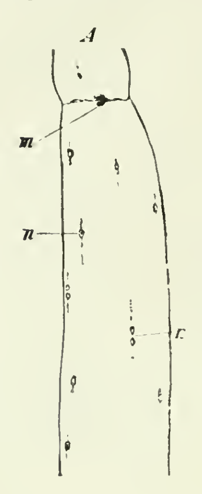
Aussehen parenchymatischer Gewebe höherer Pflanzen nachahmt. Doch ist eben ein solches Gewebe auch dann ein Produkt der Vereinigung von Hyphen und nicht das Ergebnis entsprechender Zellteilungen. Um uns über diese Art des Aufbaues zu orientieren, nehmen wir den Fruchtkörper eines Hutpilzes (Hymenomyceten) in Untersuchung. Wir wählen den Fruchtkörper des Wiesen-Egerling (Champignon), Psalliota campestris aus, weil der Pilz zu jeder Jahreszeit zu haben ist und außerdem einen relativ einfachen Bau zeigt. Wir stellen uns zunächst einen zarten Längsschnitt aus dem Stiel eines ausgewachsenen Exemplars her. Wir erkennen an ihm deutlich einen Aufbau aus longitudinal verlaufenden Hyphen und können leicht den Schnitt mit den Nadeln in der Längsrichtung zerfasern. Die Hyphen sind mehr oder weniger parallel zueinander gerichtet, einzelne verlaufen auch schräg zwischen den anderen. Jede Hyphe stellt einen septierten Faden dar, der sich durch Bildung von Seitenästen verzweigt. Diese entspringen entweder dicht unter einer Scheidewand oder auch tiefer aus den Seitenflächen. Hin und wieder stößt man auf ein blindes Zweigende. Häufig erscheinen die Abschnitte benachbarter Hyphen durch einen queren Ast verbunden und kommunizieren deutlich miteinander. In der Peripherie des Stiels sind die Hyphen schmäler, zugleich dichter zusammengedrängt; ganz an der Oberfläche bräunen sich ihre Wände und ihre Lumina kollabieren mehr oder weniger vollständig. Nach der Mitte des Stiels zu werden die Hyphen ebenfalls schmäler, doch ihr Geflecht sehr locker und daher auch ihr Verlauf ganz unregelmäßig. Große Luftmassen füllen hier die Zwischenräume der Hyphen aus. — So lange der störende Einfluß des Wassers sich auf den Inhalt der Hyphen nicht geltend gemacht hat, ist von diesem Inhalt wenig zu bemerken; nur an den Querwänden zeigt er sich stellenweise stärker angesammelt. Später pflegen sich große Vakuolen in dem Inhalt zu bilden. Vereinzelt trifft man in ihm auch kleine Kristalle.

Fig. 172. Psalliota campestris. Teil eines Querschnittes durch den Stiel eines Fruchtkörpers. In zwei Hyphen hat dieser Schnitt die Querwand gestreift, in deren Mitte je eine Tüpfelstelle als zentraler Punkt zu sehen ist. Vergr. 540.

Der Querschnitt durch den Stiel hat ein parenchymatisches Aussehen, das sich nur in den mittleren Teilen des Schnittes, wo die Hyphen sich auch von der Seite zeigen, verliert. Dieses Gewebe erscheint wie aus ungleich großen, nur regelmäßig polygonalen Zellen gebildet, mit mehr oder weniger zahlreich dazwischen befindlichen Interzellularräumen und Lücken (Fig. 172). Bei aufmerksamer Durchmusterung des Schnittes bemerkt man genau in der Mitte manches Hyphendurchschnitts einen lichtbrechenden Punkt (vgl. die Figur). Der Schnitt hat hier eine Querwand gestreift und der mittlere Punkt zeigt die Stelle eines Tüpfels an, der jederseits der Scheidewand von einer kleinen Ansammlung stark lichtbrechender Substanz bedeckt ist. — Die Abschnitte der Hyphen führen im zytoplasmatischen Wandbeleg zahlreiche sehr kleine Kerne.

Wir stellen uns auch noch aus dem Alkohol-Material Längs- und Querschnitte durch den Stiel her und färben sie mit sehr verd. Hämatoxylin-

lösung (einige Tropfen Hämatoxylinlösung auf ein Uhrglas voll Aq. dest.). Auf dem Längsschnitt kann es uns jetzt gelingen, in dem dünnen Wandbeleg der Zellen die äußerst kleinen, etwas gestreckten, dunkel gefärbten Zellkerne zu unterscheiden[1]); doch ist das Objekt für diesen Nachweis wenig günstig. Dahingegen werden wir jetzt meist unschwer beiderseits der Querwände die kleinen, dunkler gefärbten, knopfförmigen Anschwellungen an den Tüpfeln erkennen können. Sie nehmen ziemlich genau die Mitte der Querwände ein. Noch deutlicher treten sie uns auf dem Querschnitt als dunkel gefärbte, zentrale Punkte entgegen. Diese zentralen Punkte sind, wie schon erwähnt, auf den Querwänden der Basidio- und Ascomyceten ganz allgemein zu finden. Bei manchen anderen Agaricus-Arten werden sie übrigens viel auffallender als beim Champignon[2]).



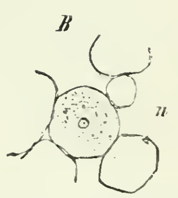


Fig. 173. Psalliota arvensis. *A* Teil einer Hyphe aus einem Längsschnitt durch den Stiel des Fruchtkörpers. *m* Tüpfel, *n* Zellkern. *B* Teil aus einem Querschnitt, eine Querwand mit Tüpfel ist getroffen, *n* Zellkern. Mit Hämatoxylin gefärbtes Alkohol-Material. Vergr. 540.

Für Untersuchung der Zellkerne und Tüpfel ist entschieden günstiger der dem Champignon nahe verwandte Schaf-Egerling, Psalliota arvensis. Der Gewebebau, den wir auch wieder am Fruchtstiel studieren, ist von dem beim Wiesen-Egerling nicht wesentlich verschieden, doch sind die Elemente größer. Die Tüpfel lassen sich schon in frischem Zustand auf Längs- und Querschnitten unschwer erkennen. Noch deutlicher wird das Bild, wenn wir Alkohol-Material zur Untersuchung heranziehen (Fig. 173 *A* und *B*). Färben wir solches mit sehr verd. Hämatoxylinlösung, so treten die Kerne und Tüpfel in der beim Wiesen-Egerling beschriebenen Weise, nur entsprechend größer, hervor. Die Kerne sind sehr leicht zu erkennen und zeichnen sich meist so scharf, daß wir selbst die Teilungsstadien unterscheiden können (vgl. Fig. 173 *A*). Wir sehen alsdann die Kerne paarweise mehr oder weniger stark genähert, durch eine Plasmabrücke noch verbunden.

Komplizierter ist der Bau der Amanita-Arten, weil deren Hyphen stark verzweigt sind und die Zweige mit keulen- bis kegelförmiger Anschwellung enden. Daher erscheint der Fruchtkörper aus zweierlei Elementen aufgebaut, den engen, schlauchförmigen und den blasig angeschwollenen. Der Nachweis der Zellkerne ist auch dort an Alkohol-Material meist leicht, und auch die Tüpfel an den Querwänden lassen sich unschwer finden.

[1]) Die Zellkerne in den Hyphen der Pilze wurden zuerst von F. SCHMITZ beobachtet, Sitzber. d. niederrhein. Ges. f. Natur- und Heilkunde in Bonn, 4. Aug. 1879 und 7. Juni 1880; dann von E. STRASBURGER, dieses Praktikum, 1. Aufl., 1884, dann von KOLDERUP ROSENVINGE, Ann. d. sc. nat., Bot. 7 sér., T. III, 1886, S. 75 u. a.

[2]) Über die Tüpfel in den Scheidewänden der Florideen vgl. G. THURET et ED. BORNET, Etudes phycologiques, 1878, S. 100; F. SCHMITZ, Sitzber. d. Kgl. Akad. d. Wiss. z. Berlin, Jahrg. 1883, S. 218, und A. MEYER, Bot. Ztg., LX. Jahrg., 1902, I. Abt. S. 139.

Als bewährte Fixierungsmittel für Pilze lassen sich der KAISERsche Sublimat-Eisessig (10 T. Sublimat, 3 T. Eisessig, 300 T. Wasser) oder ein sehr verd. FLEMMINGsches Gemisch (ca. 0,06 % Osmiumsäure, 0,06 % Eisessig und 0,2 % Chromsäure in wässr. Lösung) empfehlen. Je nach der Größe und Zartheit des Objekts muß die Fixierungsflüssigkeit 3—20 Std. einwirken. Besonders empfehlenswert ist das FLEMMINGsche Gemisch zur Fixierung von Erysibaceen, das KAISERsche für fleischige Fruchtkörper, wie etwa die der Helvellineen[1]). Das Auswaschen der FLEMMINGschen Flüssigkeit hat durch fließendes Wasser, und zwar mindestens 24 Std. lang zu geschehen. Das Sublimat läßt sich aus den mit dem KAISERschen Gemisch fixierten Objekten mit 50-proz. Alkohol, den man in kurzen Zwischenräumen zu wechseln hat, entfernen. Sämtliches Material, auch das, welches man nicht gleich verarbeiten kann, überführt man nach Entwässerung in Paraffin, da ein längeres Aufbewahren in höherprozentigem Alkohol eine gute Färbung der einzelnen Kernbestandteile beeinträchtigt. Die Einbettung in Paraffin erfolgt am besten durch Vermittlung von Xylol-Paraffin, dessen Temperatur ganz allmählich erhöht wird. Kleine Objekte bleiben in Xylol-Paraffin und im Paraffin von 45° Schmelzpunkt nur je 1 1/2—3 Std. Darauf erfolgt eine Überführung in Paraffin von 56° Schmelzpunkt, nachdem das Paraffin von 45° Schmelzpunkt mit den Objekten im Wärmeschrank bis zu jener Temperatur erwärmt worden ist. Es empfiehlt sich, die 5—7,5 μ dicken Schnitte mit 50-proz. Alkohol bei ca. 32° aufzukleben. Die Färbung geschieht mit Eisen-Hämatoxylin und nachfolgender Rubin S.-Behandlung. Man verfährt dabei folgendermaßen: Die Schnitte werden auf 1/2—12 Std. in eine 2 1/2-proz. Eisenammon-Alaunlösung und nach flüchtigem Abspülen in Wasser für die gleiche Zeit in eine gereifte Hämatoxylinlösung gebracht. Am besten benutzt man WEIGERTsches Hämatoxylin: 1 g Hämatoxylin in 10 ccm Alkohol gelöst und mit 90 ccm Wasser versetzt; diese Lösung läßt man mindestens einen Monat in unverschlossener Flasche stehen und verdünnt beim Gebrauch eine gewisse Menge davon mit dem gleichen Volumen Wasser. Nach der Färbung erscheinen die Zellen ziemlich gleichmäßig blauschwarz. Mit der Eisensalzlösung wäscht man dann den Farbstoff vorsichtig aus, wobei sich nicht alle Zellen gleichmäßig entfärben, sondern gewisse Partien von Schläuchen völlig dunkel und undifferenziert erscheinen, während in anderen Hyphen alle Teile fast vollständig entfärbt sind. Beim weiteren Auswaschen hellen sich jedoch auch die dunklen Hyphen auf, wobei sich Kerne in ihrem Innern erkennen lassen. Man differenziert so lange, bis alles Hämatoxylin aus dem Plasma verschwunden ist. Diese dunkler erscheinenden Hyphen färben sich bei der nun folgenden Tinktion mit einer wässr. Lösung von Rubin S. wiederum viel stärker, als die übrigen. Es sind die Hyphen, welche später die Asci erzeugen. Die geschilderte Art der Färbung macht es möglich, sie schon in sehr jungen Stadien als solche zu erkennen. Um scharfe Kernfärbungen zu erhalten, differenziert man die mit Hämatoxylin überfärbten Schnitte so lange mit der Eisensalzlösung, bis nur noch die Nukleolen blauschwarz erscheinen. Dann läßt man eine wässr. Rubin S.-Lösung 5 Min. oder länger einwirken und differenziert in schwachem Alkohol; das Chromatin tritt hierbei rot gefärbt hervor. Fuchsin-Methylgrün (9 T. 0,1-proz. wässr. Methylgrünlösung mit 1 T. konz. wässr. Fuchsinlösung) für 2—5 Min. auf die Schnitte

---

[1]) G. DITTRICH, COHNS Beitr. zur Biologie der Pflanzen, Bd. VIII, 1902, S. 25 ff.

gebracht, die dann mit neutralem Alk. abs. abgespült werden, gibt klare Bilder von den Kernverhältnissen in den Asci. Unter Umständen ist eine ca. 24 Std. lange, vorherige Einwirkung des stark verd. Gemisches (1 : 100 Wasser) von Vorteil. Auch mit Safranin-Gentianaviolett kann man gute Ergebnisse erzielen. Man verwendet dazu die HERMANNsche Safraninlösung (1 T. Safranin in 10 T. Alkohol gelöst, dazu 90 T. Anilinwasser), die man $^1/_2$—2 Std. einwirken läßt. Dann wäscht man mit Alkohol so lange aus, bis die Nukleolen grellrot gefärbt erscheinen und das Plasma einen leichten, rötlichen Schimmer aufweist, worauf die Schnitte in eine der Safraninlösung entsprechende Lösung von Gentianaviolett kommen und dort 5—20 Std. verbleiben. Dann wird mit Alkohol der überschüssige Farbstoff entfernt, bis bloß noch die Kerne blau gefärbt erscheinen. Der Einschluß erfolgt in Kanadabalsam.

Auch das MERKELsche Platinchlorid-Chromsäuregemisch (s. S. 65) hat sich bei Fixierung von Pilzen, namentlich Ascomyceten, sehr bewährt[1]). Hiermit fixierte JUEL[2]) Pilzrasenstücke von Dipodascus, indem er sie darin etwa 20 Std. beließ und nach dem Auswaschen teils in Alkohol, teils in verd. Glyzerin, das eindunstete, überführte. Zur Färbung wurde das Glyzerin-Material wieder in Wasser gebracht und entweder mit EHRLICHS Hämatoxylin, oder mit Eisen-Hämatoxylin stark durchgefärbt. Die Differenzierung geschah in der gebräuchlichen Eisenlösung. Die in dieser Weise behandelten, noch sehr intensiv blau bzw. schwarz gefärbten Pilzmassen wurden dann wieder in eine 10-proz. Glyzerinlösung gebracht, die durch Abdunsten konzentrierte. Sie wurden jetzt unter dem Präpariermikroskop mittels Nadeln fein zerlegt und endlich in ein Gemisch von gleichen T. Glyzerin und krist. Phenol, letzteres zur Erhöhung des Brechungsvermögens des Glyzerins, unter Deckglas eingeschlossen.

Wie eingehende Untersuchungen zeigten[3]), ist die ursprüngliche Zahl der Kerne, die jeder Hyphenzelle bei den Hymenomyceten, Gasteromyceten und auch Uredineen zukommt: zwei. Ausnahmen von dieser ursprünglichen Zahl sind nur selten. Das Verhalten der beiden ursprünglichen Kerne jeder Zelle ist dadurch bezeichnend, daß ihre Teilung gleichzeitig erfolgt und jeder Zellteilung vorausgeht, jede Tochterzelle somit immer wieder mit zwei Kernen von verschiedenem Ursprung ausgerüstet wird. Wenn wir zuvor eine größere Zahl von Kernen in den Zellen der Hyphen der Psallioten vorfanden, so ist das deshalb, weil bei ihnen, wie auch sonst meist bei Hymenomyceten und Gasteromyceten, eine sekundäre Vermehrung der Kerne in den Hyphenzellen erfolgt. Auf diese folgt bei der weiteren Entwicklung wieder eine Verminderung[4]).

Bei den Hymenomyceten und Gasteromyceten lassen sich im Myzel besonders in den mittleren Teilen stärkerer Myzelstränge und in den Fruchtkörpern Schlauchhyphen nachweisen, die mit stärker lichtbrechen-

---

[1]) P. CLAUSSEN, Zeitschr. f. Bot., IV. Jahrg., 1912, S. 8.

[2]) O. JUEL, Flora, Bd. XCI, 1902, Ergbd., S. 47. Über weitere Fixierungs- und Färbemethoden vgl. Reg. IV Pilze.

[3]) SAPPIN-TROUFFY, Le Botaniste, 3. sér., Fasc. V, 1893, u. 5. sér., Fasc. I, 1896; G. POIRAULT u. M. RACIBORSKI, Journ. de Bot., Bd. IX, 1895, S. 318; R. MAIRE, Compt. rend. Acad. Paris, Bd. CXXXI, 1900, S. 121 u. 1246, u. Bd. CXXXII, 1901, S. 861; R. HARPER, Bot. Gaz., Bd. XXXIII, 1902, S. 1, H. KNIEP, Zeitschr. f. Bot., 1913, 1915, 1916, 1917, u. a. m.

[4]) Vgl. hierzu M. HIRMER, Zeitschr. f. Bot., Bd. XII, 1920, S. 659 bzw. 667 ff.

dem Inhalt erfüllt sind[1]). Sie treten besonders scharf hervor, wenn man entsprechende Längsschnitte durch Myzelstränge oder Fruchtkörper zuerst 5—10 Min. lang mit 1-proz. Osmiumsäure fixiert, dann mit Aq. dest. auswäscht und 5—10 Min. lang in das EHRLICH-BIONDIsche Farbengemisch überträgt. Die Schnitte kommen hierauf in Alkohol von steigender Konzentration, schließlich in Alk. abs. und nach Aufhellung durch Nelkenöl in Kanadabalsam. Handelt es sich um Alkohol-Material, so wird die Färbung gleich mit dem genannten Farbengemisch vorgenommen. Die Schlauchhyphen heben sich nach solcher Färbung mit schöner, mehr oder weniger dunkler Farbe von den übrigen Hyphen ab, in Myzelsträngen sich meist grün oder grünlich, doch in manchen Fällen auch rosenrot färbend. Die Schlauchhyphen sind im allgemeinen durch ihre größere Weite und Länge ausgezeichnet und zeigen nicht selten unregelmäßige Anschwellungen oder Verjüngungen, H-förmige Anastomosen, Verbindungen durch dünne Äste auch mit gewöhnlichen Hyphen. Der stark lichtbrechende Inhalt ist meist homogen, doch kann er auch körnig sein. Meist weisen die Schlauchhyphen zahlreiche Scheidewände auf, die unter Umständen unvollständig sein können. Die chemische Natur des Inhalts ist verschieden. Häufig ist Glykogen vorhanden, besonders in jüngeren Schlauchhyphen; bei den milchenden Pilzen, Lactarius-Arten, erscheint der Inhalt milchsaftartig. Dieser Inhalt wird von einer zytoplasmatischen Wandschicht umhüllt, in der sich Zellkerne nachweisen lassen. Den Schlauchhyphen scheint bei der Speicherung und Leitung von Nahrungsstoffen eine wichtige Rolle zuzukommen.

Mit Sudan III, in Milchsäure gelöst, lassen sich die ölhaltigen Einschlüsse der Pilze färben. Eine schöne Dreifachfärbung des Pilzzellinhalts erzielt man durch Anwendung eines Gemisches dieser Sudan-Lösung mit Baumwollblau und Jod. Die fettartigen Bestandteile erscheinen dann lebhaft orange, das Glykogen mahagoni-braun gefärbt gegenüber dem blau gefärbten Protoplasma[2]).

In den Membranen der Hyphen der meisten Pilze nimmt Chitin die Stelle der Zellulose ein[3]). Der Nachweis des Chitins war hier sehr auffällig, da das Chitin bis dahin für einen Membranstoff galt, der ausschließlich dem Tierreich zukomme. Um den Nachweis des Chitins mit Erfolg an den Hyphen der Pilze führen zu können, empfiehlt es sich, etwa Fruchtkörper von Agaricus campestris in Stücke zu zerlegen und der Reihe nach mit verd. Kalilauge, mit kochender verd. Schwefelsäure, mit Alkohol und endlich mit Äther zu behandeln. Das zurückbleibende weiße Produkt, das beim Trocknen hornartig hart wird, besitzt alle Eigenschaften des Chitins; es ist in allen Reagentien, ausgenommen die konz. Säuren, unlöslich. Mit konz., warmer Salzsäure behandelt, liefert es reichlich Kristalle von salzsaurem Glykosamin. Im zugeschmolzenen Röhrchen mit konz. oder 50-proz. Kalilauge auf 160—180° erhitzt, gibt es ein als Chitosan (My-

[1]) Vgl. im besonderen CH. VAN BAMBEKE, Memoires publ. par l'Acad. Roy. de Belg., T. LII, 1894, 7. April; dort die übrige Literatur.

[2]) F. GUÉGUEN, Bull. Soc. Mycol. d. France, T. XXII, 1906, S. 224.

[3]) Vgl. E. GILSON in der Revue „La Cellule", T. XI, 1894, S. 7, und Compt. rend. Acad. Paris, 6. Mai 1895; ferner E. WINTERSTEIN, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XIII, 1895, S. 65; C. VAN WISSELINGH, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXI, 1898, S. 619 ff., und K. SHIBATA, Ebenda, Bd. XXXVII, 1902, S. 658; ferner die Zusammenstellung der Chitin-Reaktionen durch C. VAN WISSELINGH in Folia microbiologica, III. Jahrg., Heft 3, 1915. Eingeh. Bericht darüber in Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXXII, 1915, S. 341 ff.

kosin) bezeichnetes Produkt, das durch Jodlösungen, die nicht viel Jod (0,5—1%) enthalten[1]) und denen eine Spur freie Säure, z. B. sehr verdünnte Schwefelsäure, zugefügt wird, rotviolette Färbung annimmt. (Vgl. auch Reg. IV Chitin.) Dieses VAN WISSELINGHsche Verfahren läßt sich vereinfachen, indem man die Untersuchungsobjekte, statt sie in ein Glasröhrchen einzuschließen, in ein Becherglas mit konz. gesätt. Kalilauge bringt, die durch Erhitzen über einer Bunsen-Flamme zum Sieden bei etwa 110° C gekommen ist, und in ihr 20 bis längstens 30 Min. kocht, wobei man den Becher mit einem Uhrglas zudeckt. Dann läßt sich an dem durch Auswaschen in Alk. abs. gehärteten Objekten in der eben angegebenen Weise die Chitosan-Reaktion erzielen[2]). — Bei der Beurteilung der Membranen endoparasitischer Pilze ist Vorsicht geboten, da an ihrem Aufbau auch, wie das z. B. JOHNSON für Chrysophlyctis endobiotica nachgewiesen hat, die Membranen der an den Parasiten anstoßenden Zellen der Wirtspflanze beteiligt sein können[3]), die dann Holz- bzw. Zellulosereaktionen geben[4]). So wie die Zellulose in der Membran der höher organisierten Pflanzen[5]), ist das Chitin in solchen Pilzmembranen mit Kohlenhydraten verbunden, die sich in Traubenzucker überführen lassen[6]).

Die für die Membranen verschiedener Pilzgruppen angegebene Kallose dürfte vielfach nichts anderes als Chitin darstellen[7]). Kalloseähnlich reagierende Substanzen kommen jedenfalls in den Membranen der Peronosporeen vor. Der Reichtum an solchen Stoffen läßt sich zum Nachweis des Myzels dieser Pilze innerhalb ihrer Nährpflanzen verwerten[8]). Man kann ganze Gewebeteile, Blatt-, Stengel-, Wurzelstücke oder auch Schnitte verwenden. Handelt es sich um ganze Gewebestücke, so muß man sie, falls sie nicht schon in Alkohol sich befanden, vielmehr frisch oder trocken sind, kurze Zeit in Alkohol kochen, um alle Luft aus ihnen zu vertreiben. Dann legt man sie in Salzsäure, die man höchstens mit einem Drittel Wasser versetzt, und fügt je 1 g chlorsaures Kali auf 20 ccm Flüssigkeit hinzu. In diesem Gemisch haben die Objekte einen halben oder ganzen Tag im Winter, 5—6 Stunden im Sommer zu verweilen. Die Gewebe müssen weiß geworden sein. Dann wäscht man sie gut aus und bewahrt sie in Alkohol. Für die Beobachtung werden die Objekte nunmehr, wohl 1 Std. oder länger, mit einer konz. Lösung von Kali in Alkohol behandelt. Unter Umständen empfiehlt es sich, eine Behandlung mit Wasser, das mit einigen Tropfen Ammoniak versetzt ist, der Kalialkohol-Behandlung vorausgehen zu lassen. Bei trockenen Objekten, die man dem Herbar entnahm, wird man statt des geschilderten Verfahrens besser mit reiner bzw. mit 1 oder 2 Volumen Wasser verd. Salpetersäure zum Ergebnis kommen. — Handelt es sich um Schnitte, so behandelt man diese

---

[1]) Z. B. eine Lösung von 0,2 T. Jod und 2 T. Jodkali auf 100 T. Wasser.

[2]) Nach V. VOUK, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXIII, 1915, S. 414. Auf diese Weise konnte sowohl bei Phycomyceten, wie Ascomyceten und Basidiomyceten Chitin nachgewiesen werden. Über ein neueres vereinfachtes Verfahren vgl. Reg. IV Chitinnachweis.

[3]) T. JOHNSON, Scient. Proceed. Roy. Dublin Soc., Bd. XII, Nr. 14, 1909, S. 133.

[4]) W. BALLY, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. L, 1911, S. 122, H. VON GUTTENBERG, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVI, 1909, S. 466.

[5]) Vgl. S. 171 dieses Praktikums.

[6]) E. WINTERSTEIN, l. c. 1895, S. 69.

[7]) Vgl. dazu FR. CZAPEK, Biochemie der Pflanzen, 2. Aufl., Bd. I, 1913, S. 632 ff. bzw. 3. Aufl., 1921 ebenda. Dort und im Reg. IV bei Kallose (Fungose) die hierhingehörigen Literaturangaben von MANGIN, TANRET, WINTERSTEIN, VAN WISSELINGH u. a.

[8]) Nach L. MANGIN, Bull. soc. d'hist. nat. d'Autun, T. VIII, 1895.

mit reiner oder verd. JAVELLEscher Lauge und nach dem Auswaschen mit Kalialkohol. Man kann auch statt der JAVELLEschen Lauge eine $^1/_{200}$- oder $^1/_{300}$-, ja unter Umständen nur $^1/_{1000}$-proz. Lösung von übermangansaurem Kali anwenden. Die Färbungen werden vorgenommen mit Anilinblau und Orseilline BB oder Anilinblau und Vesuvin. Die mit Kalialkohol behandelten Gewebe müssen in Essigsäure gelangen, die man mit einigen Tropfen einer wässr. Lösung von Orseilline und 1 oder 2 Tropfen Anilinblau versetzte, um eine violette Lösung zu erhalten. Nach vollzogener Färbung fügt man einen Tropfen Glyzerin hinzu und entfernt nach und nach mit Fließpapier den Überschuß der Farblösung. Das Myzel ist himmelblau, während die Zellwände der Nährpflanze rosenrot gefärbt erscheinen. Will man mit Benzidin-Farbstoffen färben, so muß das im alkalischen Medium geschehen. Die besten Wirkungen erreicht man mit einem Gemisch von Benzoazurin oder von Azurine brillante mit Rosaazurin. Das letztere färbt die Myzelfäden rosa oder rot, das erstere die Zellulosemembranen der Nährpflanze blau. Die Objekte, die so gefärbt werden sollen, kommen in eine wässr. Lösung des betreffenden Farbengemisches, die man mit 20-proz. kohlensaurem Natron versetzt. Die Einwirkung hat 2—3 Std. anzudauern: die Objekte werden mit Wasser abgespült und in Wasser oder verd. Glyzerin untersucht, die 1—2 % Kupfersulfat enthalten. Das Kupfersulfat fixiert die Farbstoffe und wird auch zu diesem Zweck in der Baumwollfärberei bei Anwendung von Benzidin-Farbstoffen benutzt. — Auch kann man, wie z. B. bei Peronospora parasitica und Uredineen (vgl. auch Reg. IV Uredineen) mit Vorteil folgendes Verfahren einschlagen[1]. Die Schnitte werden zunächst in DELAFIELDSschem Hämatoxylin (1 T. konz. Lösung und 3 T. Aq. dest.) intensiv gefärbt, dann mit Wasser abgespült und in Wasser getaucht, dem einige Tropfen Ammoniak zugesetzt worden sind. Nach Entwässern in 95-proz. Alkohol kommen sie für 5—10 Min. in eine ½-proz. Lösung von Eosin in 95-proz. Alkohol. Nachdem die Schnitte dann in Karbol-Terpentin (3 T. Terpentin und 3 T. Karbolsäurekristalle) aufgehellt, in Wasser abgespült und in Xylol überführt sind, heben sich in ihnen die durch das Eosin gefärbten Myzelien deutlich von den Zellwänden der Wirtspflanze ab. — Solche Färbungen gestatten es leicht, auch die Haustorien der Parasiten zu verfolgen. So findet man letztere auch bei Phytophthora infestans, wo sie in Gestalt sehr feiner Fäden in die Zellen der Nährpflanze eindringen. Chlorzinkjod leistet beim Studium des Myzels von Albugo candida in Capsella Bursa pastoris gute Dienste. Die Wände der Wirtszellen färben sich damit zunächst hellblau, die Hyphen hingegen sofort dunkelblau, während die Haustorien eine braune Färbung annehmen[2].

Über den Bau des Lagers (Thallus) der Flechten orientieren wir uns am besten bei der an Baumstämmen allverbreiteten Anaptychia ciliaris. Statt frischem können wir auch Sammlungsmaterial zur Untersuchung verwenden, das zum Schneiden entweder in Wasser aufzuweichen oder trocken in Stearin einzubetten ist[3]. Wir berücksichtigen jetzt nur den Bau des Thallus, nicht etwa die auf ihm befindlichen, schüsselförmigen Apothecien. Der Thallus ist

---

[1]) E. J. DURAND, Phytopath., Vol. I. 1911, S. 129.

[2]) H. v. GUTTENBERG, Beitr. z. physiol. Anat. d. Pilzgallen, 1905, S. 8.

[3]) Näh. s. im Reg. IV Trockene Pflanzen. Die feineren Strukturverhältnisse lassen sich nur an entspr. fixiertem u. gefärbtem Material (s. Reg. IV Flechten) studieren.

aufsteigend, blattartig-strauchig, an der Rückenfläche graugrün bis lebhaft grün, an der Bauchfläche grau. Von den Rändern des Thallus entspringen steife Wimpern, die sich an den Enden oft gabelig teilen und, wo sie das Substrat erreichen, mit ihm verwachsen. Wir spannen ein Stückchen Thallus zwischen Holundermark ein und führen Querschnitte durch beide. Hinreichend starke Vergrößerung vorausgesetzt, sehen wir, daß der Thallus an seiner Rückenfläche aus eng verflochtenen, dickwandigen Hyphen besteht. Diese erzeugen die sog. Rindenschicht. Weiter nach innen zu treten die Windungen der Hyphen auseinander, um die lockere „Markschicht“ zu bilden. Hier stellt man leicht fest, daß die Hyphen lange, von Zeit zu Zeit sich verzweigende, durch Querwände septierte Schläuche darstellen. An der Grenze von Rinde und Mark sind relativ große, grüne, kugelrunde Zellen eingestreut. Sie stimmen mit der Algenart Chlorococcum humicola (Naeg.) Rab. überein. Die Hyphen liegen den grünen Algenzellen an und führen ihnen rohe Nahrungssäfte zu, wofür sie einen Teil der in der Alge assimilierten Substanzen zurückempfangen. Es handelt sich hier somit um eine „Symbiose“, ein Zusammenleben von Pilz und Alge, das auf gegenseitiger Dienstleistung beruht, wobei sich allerdings der Pilz in vielen Fällen besser steht[1]). An der Bauchfläche des Thallus von Anaptychia verflechten sich die Pilzhyphen wieder fester, um eine Art unterer Rinde zu bilden, oder diese festere Verflechtung unterbleibt, und das lockere Markgewebe reicht bis an die Bauchfläche. Letzteres ist ganz vorwiegend der Fall. An den Rändern des Thallus greift aber die Rindenschicht des Rückens bis auf die Bauchseite herüber. Von diesen Rändern entspringen, wie wir schon makroskopisch feststellen konnten, die Haftfasern (Rhizinen), die aus parallelen, fest verbundenen Hyphen bestehen. Die Wände dieser Hyphen haben bräunliche Färbung. An ihrer Basis gabeln sich oft die Stränge. — Bei anderen Flechten pflegen die Rhizinen meist aus der Bauchfläche des Thallus hervorzugehen.

Wir haben in Anaptychia ciliaris eine Flechte mit geschichtetem oder heteromerem Thallus kennen gelernt, heteromer, weil die Algenzone eine gesonderte Schicht in dem Thallus bildet. Bei weniger hochorganisierten Flechten ist der Thallus homoeomer, d. h. die Algen sind durch das ganze Gewebe verteilt. Zu den letzteren zählen auch die Gallertflechten, bei denen die Algen in einer durchscheinenden Gallerte liegen, die von den Hyphen des Pilzes durchsetzt wird. — Die Algen, die sich an dem Aufbau des Flechtenthallus beteiligen, sind je nach der Art verschieden, zeigen sich grün oder blaugrün gefärbt, gehören aber, so gut wie ausschließlich, den niedersten Abteilungen des Algenreichs an. Man faßt sie als „Gonidien“ der Flechten zusammen.

Jede der Gonidien von Anaptychia weist einen hohlkugeligen Chromatophor und in diesem ein Pyrenoid[2]) auf. Nach Jodjodkalium-Zusatz tritt ein exzentrisch gelegener Zellkern hervor. Das Pyrenoid, das ohne Reagentien leicht sichtbar ist, möchte man zunächst für einen Zellkern halten doch führt die Anwendung von Reagentien alsbald zur richtigen Deutung

---

[1]) Vgl. dazu W. Nienburg, Zeitschr. f. Bot., Bd. IX, 1917, S. 529ff.

[2]) Vgl. F. Schmitz, Die Chromatophoren der Algen, 1883, S. 43.

Wir ziehen auch noch die allverbreitete, gelbe Xanthoria parietina zur Untersuchung heran. Von dieser vielgestaltigen Flechte halten wir uns an die gemeinste, breitlappige Form „vulgaris“, und zwar wiederum an sterile Exemplare. Auch in dieser liegt uns eine Flechte mit heteromerem Thallus vor. Querschnitte durch diesen führen uns an der Rückenfläche eine sehr dichte Rindenschicht vor. Die Hyphen sind so fest in ihr verbunden, daß das Bild durchaus den Eindruck eines ziemlich stark verdickten, parenchymatischen Gewebes macht. Unter dieser Rinde liegt das lockere Mark und in dessen oberer Schicht die Algen, auch hier zu der Form des Chlorococcum humicola gehörig. Im Gegensatz zu Anaptychia folgt an der Unterseite eine ebenso dichte Rindenschicht, wie wir sie an der Rückenfläche fanden, und von dieser entspringen die Haftfasern, die den Thallus am Substrat befestigen. Was uns vornehmlich veranlaßte, Xanthoria parietina noch zu untersuchen, ist aber der körnige Beleg, der vornehmlich an der Oberseite stark entwickelt ist und dem Thallus die gelbe Farbe verleiht. Dieser Beleg wird besonders gut sichtbar, wenn uns der Schnitt ein Stück der Oberseite in Flächenansicht vorführt. Fügen wir einen Tropfen Kalilauge vom Deckglasrand hinzu, so löst sich der Beleg, der vorwiegend aus Physcion (= Parietin, Xanthorin, Chrysophyscin) besteht, mit schöner, purpurroter Farbe[1]). Noch charakteristischer ist das Verhalten in Kalkwasser; werden die Schnitte in solchem etwa einen Tag belassen, so erscheinen die Körnchen rot gefärbt, ohne sich gelöst zu haben.

Die verschiedenen für die Flechten charakteristischen Flechtenfarbstoffe und Flechtensäuren (vgl. a. Reg. IV) werden vielfach als Körnchen an der Außenseite der Hyphenmembranen abgelagert, können auch die Membranen der Hyphen selbst imbibieren, wohl auch im Zellinhalt sich vorfinden[2]). Die Körnchen sind entweder farblos oder gefärbt und verleihen im letzteren Fall dem Thallus, wie bei Xanthoria parietina, eine bestimmte Farbe.

In den Wänden der Flechtenpilzhyphen tritt das Chitin stark zurück; sie bestehen vornehmlich aus Hemizellulosen (Mannose, Galaktose, d-Glykose usw.) oder auch Substanzen, die zwischen den Hemizellulosen und Glykosen stehen und schon von heißem Wasser in Lösung gebracht werden (wie Lichenin, Everniin usw.). Die Membranen der Gonidien bestehen jedoch größtenteils aus Zellulose[3]). So kommt es, daß bei Einwirkung von Chlorzinkjodlösung im Gegensatz zu den sich gelb bis gelbbraun färbenden Membranen der Pilzhyphen die der Algenzellen schön blau werden. Im Cyanin-Erythrosin (Reg. IV) nehmen die Algen den blauen, die Pilzhyphen den roten Farbstoff auf[4]).

Xanthoria parietina bildet oft an sterilen Exemplaren als Soredien bezeichnete kleine Brutkörper, und es dürfte nicht schwer werden, uns solche Exemplare zur Untersuchung zu verschaffen. Bekanntlich liegen in solchen Soredien die vegetativen, den meisten Flechten zukommenden Vermehrungsorgane vor. Während diese in anderen Fällen oft den ganzen

[1]) Vgl. W. ZOPF, Die Flechtenstoffe, Jena, 1907, S. 304; weitere Reaktionen in E. SENFT, WIESNER-Festschrift, 1908, S. 186.

[2]) Vgl. FR. CZAPEK, Biochemie der Pflanzen, 2. Aufl., Bd. I., 1913, S. 638, bzw. 3. Aufl., 1921 Ebenda; dort auch die zugehör. Literatur, bes. d. Arbeiten von W. ZOPF u. O. HESSE. Ferner W. ZOPF, l. c. 1907.

[3]) Vgl. A. ULANDER, Diss., Göttingen, 1905. S. a. Reg. IV Isolichenin.

[4]) Nach CH. J. CHAMBERLAIN, Methods in Plant Histology, 3. Aufl., Chicago, 1915, S. 202.

Thallus der Flechte im Reifezustand als pulverige Masse überziehen, decken sie bei Xanthoria parietina nur die Ränder der Thalluslacinien und sind dort als körnige Masse mit der Lupe leicht zu unterscheiden. Man überträgt sie von diesen Rändern in den Beobachtungstropfen und kann dort die einzelnen, rundlichen Körner getrennt untersuchen. Sie schließen in ihrem Innern eine Gruppe von Algenzellen ein, die von einer parenchymatisch ausgebildeten Hyphen-Rinde umgeben sind. Zahlreiche Soredien sind

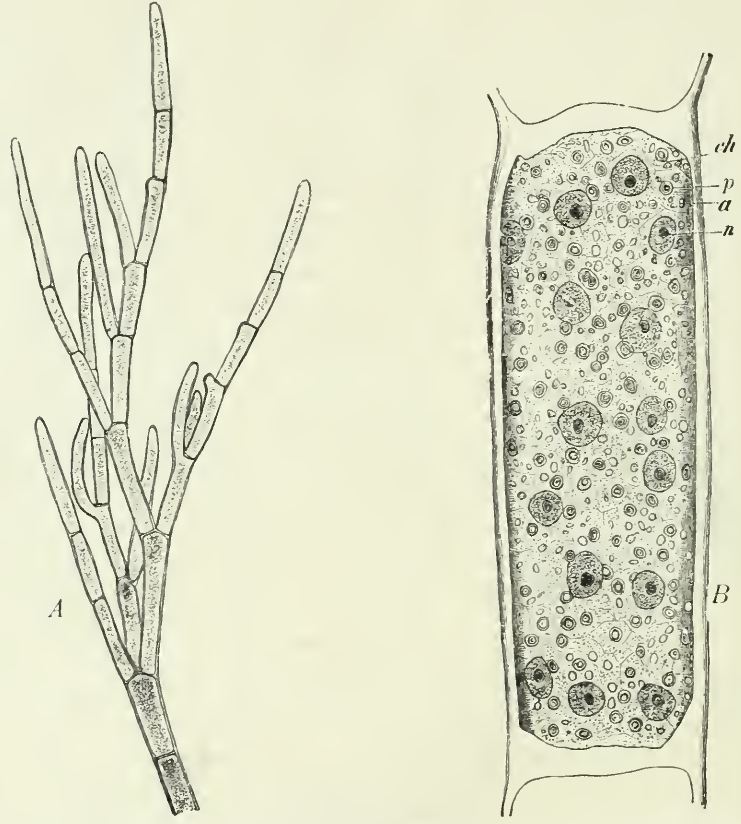


Fig. 174. *A* Stück einer Cladophora glomerata. Vergr. 48. *B* eine Zelle derselben Cladophora, nach einem Chromsäure-Karmin-Präparat. Vergr. 540. *n* Zellkerne, *ch* Chromatophoren mit Pyrenoiden *p* und Stärkekörnchen *a*.

in Vermehrung begriffen, was dadurch zustande kommt, daß sich Hyphen zwischen die geteilten Algenzellen eindrängen und diese schließlich durch Rindenbildung trennen. Zusatz von Kalilauge gibt auch um die Soredien die Physcion-Reaktion und erleichtert den Einblick in das Innere des Sorediums. Die Soredien entstehen zunächst in der Algenschicht des Thallus, vermehren sich dort bereits und durchbrechen schließlich die Rinde am Thallusrand, um nach außen zu treten. Dieses läßt sich an Längsschnitten durch den Thallus feststellen. Unter Umständen gehen aus den Soredien neue Thalli hervor; es können aber die Soredien an feuchten Orten sich fast unbegrenzt vermehren und dort große Flächen überziehende Soredien-Anflüge bilden.

Die Algengattung Cladophora[1]) bietet reich verzweigte, grüne Zellfäden dar, deren Zellen mit fortschreitendem Grad der Verzweigung an Dicke abnehmen. Es ist das die verbreitetste Gattung der Süßwasseralgen, und jede ihrer Arten ist für die Untersuchung geeignet. Die Artbestimmung ist in dieser Gattung aber sehr unsicher. Wir wählen eine dunkelgrüne, flutende, rasenbildende Art, die Cladophora glomerata (Fig. 174 *A*) zur näheren Betrachtung aus. Sie ist büschelig verzweigt; die Seitenzweige entspringen, wie bei allen anderen Cladophoren, aus den oberen Seitenrändern der Zellen. Die Verzweigung schreitet akropetal fort, so daß die Endglieder der Zweige als Scheitelzellen anzusehen sind. Es gehen aber auch aus älteren Zellen nachträglich Seitenzweige, gewissermaßen Adventivzweige hervor. Bei hinreichend starker Vergrößerung betrachtet, zeigt sich der grüne Wandbeleg der Zellen aus kleinen, polygonalen, aneinanderstoßenden Plättchen (Fig. 174 *B*, *ch*) gebildet, die durch zarte, farblose Linien seitlich getrennt sind. In jedem Plättchen sind mehr oder weniger zahlreiche, blasse Körner (*a*) zu sehen; außerdem liegen in einzelnen Platten relativ große, mehr oder weniger regelmäßige, rundliche, stärker das Licht brechende Gebilde (*p*), die als Pyrenoide bezeichnet werden und auf Eiweiß reagieren[2]); jedes Pyrenoid ist von einer Stärkehülle umgeben. Die Zellen sind im Innern von Zellsaft erfüllt, der von farblosen, äußerst dünnen Plasmaplatten durchsetzt wird, die, von dem Wandbeleg ausgehend, den Saftraum in unregelmäßige, verschieden große, polygonale Kammern zerlegen. Stellenweise erblickt man in den inneren Plasmaplatten Chromatophoren. Bei Einstellung auf den optischen Durchschnitt fällt es uns auf, daß der farblose Wandbeleg hier und da in den Saftraum vorspringt. Er schließt die Kerne ein, in denen bei besonders günstiger Lage sogar ein Kernkörperchen zu unterscheiden ist. Wir haben es bei Cladophora, wie aus dieser Beobachtung schon folgt, mit einer Alge zu tun, die viele Kerne in ihren Zellen führt. Wird das Präparat ziemlich stark gequetscht, so sieht man in den gedrückten Zellen den Inhalt von der Wand etwas zurücktreten, die einzelnen Chlorophyllplättchen sich voneinander trennen und abrunden. Gleichzeitig treten die kleinen Körner (*a*) und Pyrenoide (*p*) deutlich in den Chromatophoren hervor, welche dann ebenso aussehen, wie die Chlorophyllkörner höherer Pflanzen, auf die Wasser einwirkt. Setzen wir nun ein wenig Jodjodkaliumlösung dem Präparat zu, so erscheinen die kleinen Körner und auch die Hüllen der Pyrenoide braun, indem die erfolgende Violettfärbung durch das Grün der Chromatophoren verdeckt ist; die stellenweise sichtbaren Kerne nehmen eine braune Färbung an. Wir suchen in diesem Präparat unversehrte Stellen auf, welche Stärkekörner und Pyrenoide gut gefärbt zeigen, und in denen wir auch bei tieferer Einstellung die Kerne erkennen. — Wir untersuchen hierauf noch einen Faden, den wir direkt in einen Tropfen Pikrinsäure-Alkohol einlegten. In dem sich gelbbraun färbenden Inhalt der Zellen treten die Pyrenoide deutlich

---

[1]) F. Schmitz, Siphonocladiaceen, 1879, S. 17; E. Strasburger, Zellbildung und Zellteilung, 3. Aufl., 1880, S. 204; F. Brand, Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. X, 1901, S. 481.

[2]) F. Schmitz, l. c. 1883, S. 37; vgl. a. H. G. Timberlake, Science, N. S. Bd. XVII, 1903, S. 460.

hervor. Auch stellen sich nach kurzer Zeit in den Chlorophyllplatten unregelmäßig begrenzte, braune Körner aus Chlorophyllan ein, die von zersetztem Chlorophyllfarbstoff herrühren und auch nach Einwirkung anderer Säuren auftreten (Chlorophyllanreaktion)[1]).

Um die Kerne genauer studieren zu können und vollen Einblick in deren Verteilung zu gewinnen, wollen wir noch andere Mittel anwenden. Diese Mittel sollen uns zugleich Gelegenheit bieten, einige bewährte Fixierungs- und Färbungsmethoden kennenzulernen, denen die histologischen Studien in den letzten Dezennien wesentliche Förderung verdanken. — In Alk. abs. kollabieren die Cladophoren bandartig; sie lassen sich hingegen gut mit bestimmten Säuren und Säuregemischen fixieren, die auch für das Gewebe höher organisierter Pflanzen, wenn dieses entsprechend zerkleinert in die Lösung eingetragen wird, sich besonders gut bewährt haben. Wir legen von unserer Cladophora eine kleine Partie in 1-proz. Chromsäure, eine andere kleine Partie in konz. Pikrinsäure, eine weitere in Chrom-Essigsäure (Chromsäure 0,7 %, Essigsäure 0,5 %), eine weitere in Chrom-Osmium-Essigsäure (Chromsäure 0,5 %, Osmiumsäure 0,2 %, Eisessig 0,2 %). Hierbei haben wir darauf zu achten, daß die Menge der benutzten Flüssigkeit mindestens das Hundertfache des Volumens des zu fixierenden Objekts betrage. Die Chromsäure und Chrom-Essigsäure lassen wir einige Stunden, doch ohne Nachteil selbst 24 Std., die Chrom-Osmium-Essigsäure 1/2 Std., die Pikrinsäure etwa 24 Std. einwirken. In allen Fällen müssen die Objekte hierauf auf das sorgfältigste in fließendem Wasser ausgewaschen werden (vgl. S. 62ff. und 409). Ganz besonders hat man darauf zu achten, daß alle Pikrinsäure aus den Objekten entfernt werde, falls man diese mit Hämateïn-Ammoniak (s. unten) färben will. — Die verschiedenartig fixierten und gut ausgewaschenen Objekte legen wir nunmehr in ein Uhrglas mit P. Mayerschem Karmalaun oder Mayerschem Parakarmin[2]). In den Karminen haben die Schnitte mehrere Stunden zu verweilen. Eine andere Partie der Fäden färben wir mit P. Mayerschem Hämalaun. Am besten ist es, von Zeit zu Zeit den Tinktionsgrad der Objekte an kleinen Proben unter dem Mikroskop zu kontrollieren und sie herauszunehmen, wenn sie hinreichende Mengen Farbstoff aufgespeichert haben. Sollte trotz dieser Vorsichtsmaßregel eine Überfärbung der Objekte stattgefunden, d. h. diese zu dunkel sich gefärbt haben, so legt man sie in reines Wasser oder in etwa 1-proz. wässr. Alaunlösung und läßt sie in den betreffenden Flüssigkeiten so lange, bis die Intensität der Färbung in erwünschtem Maße abgenommen hat. Um die Pikrinpräparate nach der Hämateïn-Ammoniak-Methode[3]) zu färben, müssen wir aus ihnen, wie erwähnt, jede Spur von Pikrinsäure entfernt haben. Wir übertragen sie in relativ große Mengen ausgekochten Wassers, das wir noch wiederholt wechseln. In diesem zuvor durch Kochen von Kohlensäure befreiten Wasser verweilen die Objekte an 24 Std., worauf sie erst gut gefärbt werden können. Zu dem Zweck werfen wir einige Hämatoxylinkristalle in ein wenig Aq. dest. und blasen dieses

---

[1]) R. Willstätter, Ann. d. Chemie, Bd. CCCLIV, 1907, S. 205; H. Malarski und L. Marchlewski, Biochem. Zeitschr., Bd. XXVII, 1910, S. 246, auch H. Molisch, Mikrochemie der Pflanzen, 2. Aufl., Jena, 1921, S. 246.

[2]) Die Eigenschaft des Zellkerns, bestimmte Farbstoffe mit Begierde aufzunehmen und aufzuspeichern, wurde von Th. Hartig entdeckt, Bot. Ztg., XII. Jahrg., 1854, Sp. 877. In die tierische Histologie wurde das Verfahren von J. Gerlach eingeführt, Mikrosk. Studien a. d. Geb. d. menschl. Morphologie, 1858.

[3]) Vgl. F. Schmitz, Sitzber. d. Niederrhein. Gesellsch., 13. Juli 1880.

mit Ammoniakgas an. Wir bewerkstelligen das mit Hilfe eines etwas Ammoniaklösung enthaltenden Spritzfläschchens, in dem die beiden Glasröhren die Flüssigkeit nicht erreichen. Die Hämatoxylinkristalle lösen sich hierauf mit schön violetter Farbe. Man verdünnt die Lösung stark mit Aq. dest. und läßt die Objekte einige Stunden in ihr liegen. Der richtige Augenblick der Färbung läßt sich auch hier direkt kontrollieren. Man pflegt die Objekte mit Vorteil etwas zu überfärben und wässert sie hierauf mehrere Std. lang mit Aq. dest. Anders als mit Pikrinsäure gehärtete Präparate sind für die Hämateïn-Ammoniak-Tinktion wenig geeignet. Die mit Karmalaun gefärbten Objekte spült man mit Aq. dest. aus. Bleibt das Zytoplasma etwas gefärbt, so kann diese Färbung durch 1-proz. Alaunlösung oder eine $^1/_2$—1-proz. Salzsäurelösung beseitigt werden. Hat man die Färbung mit Parakarmin vorgenommen, so wäscht man mit einer entsprechend schwachen Lösung von Chloraluminium in Alkohol, und wenn dies nicht genügt, mit Alkohol, der 5% Essigsäure enthält, aus.

Wollen wir nach vollendeter Untersuchung dieser gefärbten Objekte uns Dauerpräparate aus ihnen herstellen, so wählen wir als Aufbewahrungsmittel Glyzerin oder Glyzerin-Gelatine. Die hier in Betracht kommenden Objekte dürfen nicht unmittelbar in die genannten Einschlußmittel übertragen werden, da die Zellen sonst infolge plötzlicher Wasserentziehung zusammensinken. Man legt die Objekte daher zunächst in sehr verd. Glyzerin, das durch Stehen an der Luft sich langsam konzentriert. Dann können die Fäden ohne nachteilige Folgen in konz. Glyzerin oder in Glyzerin-Gelatine übertragen werden. Die Glyzerinpräparate verschließen wir mit Kanadabalsam. Die Glyzerin-Gelatinepräparate verlangen zunächst keinen weiteren Verschluß (vgl. im übrigen S. 123 ff.).

Die verschieden fixierten und gefärbten Präparate unterwerfen wir einem eingehenden Studium und finden, daß die Chromsäure, bzw. Chromsäuregemisch-Karminpräparate einerseits, die entsprechend fixierten, mit Hämalaun und Hämateïn-Ammoniak gefärbten Objekte andererseits, in dem vorliegenden Fall die besten sind. Doch muß gleich ausdrücklich betont werden, daß dieses Ergebnis nur eben für das vorliegende Objekt maßgebend ist, und sehr wohl bei anderen eine Methode, die hier weniger anschlug, den Vorzug verdienen könnte. Auch kommt es nur zu häufig vor, daß eine sonst bewährte Tinktion aus unbekannten Ursachen versagt; daher ist niemals auf einen vereinzelten Fall hin ein Schluß zu ziehen. Überhaupt hat sich das Fixieren und Färben des Zellinhalts zu einer besonderen Kunst entwickelt, die erlernt werden will und Übung verlangt, so daß man bei den ersten Versuchen auf Mißerfolge gefaßt sein muß. — Wir haben die Cladophoren als geeignetes Objekt für die Einführung in verschiedene Härtungs- und Färbungsmethoden gewählt; wer sich auf die sicherste, fast nie versagende Methode bei ihnen beschränken will, der härte sie in der zuvor angegebenen Weise mit 1-proz. Chromsäure und färbe hierauf mit einem der empfohlenen Karmine oder mit Hämalaun. Die Karmintinktionen gelingen so gut wie immer.

In den Karminpräparaten (Fig. 174 *B*) treten die Kerne ganz scharf hervor. Die Pyrenoide, sowie das übrige Zellplasma bleiben so gut wie ungefärbt; auch die Stärkekörner nehmen diesen Farbstoff nicht auf. Die Kerne, denen wir besonders unsere Aufmerksamkeit zuwenden, sind annähernd gleichmäßig in der Zelle verteilt; sie liegen der Chlorophyllschicht von innen an und ragen in das Zellinnere hinein. Jeder Kern weist ein dunkel

gefärbtes Kernkörperchen auf und erscheint im übrigen wie feinkörnig oder feinporös. — Die Hämalaun- bzw. Hämateïnpräparate zeigen die Kerne dunkel gefärbt, außerdem, wenn auch schwach, die Pyrenoide. Die Stärkekörner sind nicht gefärbt, wohl aber die Mikrosomen im Zytoplasma, und zwar fast ebenso dunkel wie die Pyrenoide.

Die Zellhaut von Cladophora glomerata zeigt, wenn wir jüngere, normal vegetierende Teile der Alge gleich nach dem Einsammeln in reinem Wasser untersuchen, zwei Schichten, eine äußere dunklere, die über die Ränder der Scheidewände hinwegläuft und die Alge gleichmäßig überzieht, und eine innere, glashelle, welche die einzelne Zelle vollständig umschließt. In Salzlösungen tritt diese Zusammensetzung der Membran noch deutlicher hervor. Mit Safranin, Hämatoxylin, besonders aber dem auf Pektingehalt hinweisenden Rutheniumrot lassen sich beide Schichten färben[1]). — An dem mit den vorher (S. 398) genannten Gemischen fixierten Material, das in Alk. abs. eingelegte ausgenommen, zeigen sich die Membranen mehr oder weniger stark gequollen, wobei der Aufbau der Schichten aus einzelnen Lamellen deutlich zutage getreten ist. Sollte es uns darauf ankommen, die Quellung der Wände zu verhüten, so könnten wir dies auch an den Pikrinsäure-Präparaten durch bestimmte Abänderung des Verfahrens erreichen. Statt einer konz. wässr. Lösung nehmen wir eine konz. Lösung in 50-proz. Alkohol[2]). Diese Lösung fixiert fast augenblicklich; man läßt sie nur wenige Sek. einwirken; hierauf kommen die Präparate in 50-proz. Alkohol, der mehrfach zu wechseln ist, und können darin verweilen. Die Färbung wird in gewohnter Weise vollzogen und pflegt mit den Karminen meist gut, weniger gut mit Hämalaun zu gelingen. Zum gleichen Zweck kann man eine Chromsäure- bzw. Chromsäuregemisch-Lösung in 50-proz. Alkohol anwenden. — Membranwachstumsstudien nehmen wir am besten an Material vor, das mit einer schwachen etwa 0,005-proz. Methylenblau-Lösung „schnell“ gefärbt wurde[3]). Alle in lebhaftem Wachstum begriffenen Membranpartien nehmen den Farbstoff besonders intensiv auf. — Die fast augenblicklich bei höheren Pflanzen die Zellkerne fixierende und färbende Methylgrün-Essigsäure läßt uns bei Cladophora vollständig im Stich. Statt ihrer können wir aber mit gutem Erfolg eine Jod-Eosin- bzw. Jod-Methyleosin-Lösung verwenden, die wir durch Zusetzen einer je nach Bedarf stärkeren oder schwächeren Lösung des Farbstoffs zu Wasser, dem im Überschuß krist. Jod zugefügt ist, herstellen[4]).

Einen einfachen Zellfaden bietet uns die Gattung Spirogyra. Wir wählen zur Untersuchung eine Art, die einen zentralen, leicht sichtbaren Kern aufweist. So gebaut ist beispielsweise Spirogyra majuscula, die man nicht eben selten in Wasserlachen findet. Indessen können ebensogut auch andere Arten mit zentralem Kern zur Beobachtung dienen und werden in den wesentlichen Verhältnissen ihres Baues nur wenig Abweichung bieten. Ist man einmal im Besitz von gutem Spirogyrenmaterial, so suche man es weiter zu kultivieren. In Zimmerkulturen gehen die Spirogyren leicht zugrunde. Am besten gelingt es, sie in mit Regen- oder Leitungswasser gefüllten Glasschalen von 20 cm Durchmesser, deren Boden mit einer dünnen Schicht gesunden Schlamms bedeckt ist und die einige Sprosse von Helodea schwim-

[1]) F. Brand, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXVI, 1908, S. 114. Dort auch Angaben über die feinere (Faser-) Struktur der Lamellen.

[2]) G. Berthold, Mitt. zool. Stat. zu Neapel, Bd. II, Heft 1, 1880, S. 74, Anm.

[3]) F. Brand, l. c. 1908, S. 126, auch S. 451 dieses Praktikums.

[4]) Nach E. Palla, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XII, 1894, S. 154.

mend enthalten, am Fenster eines kühlen Nordzimmers oder im Kalthaus bei Oberlicht zu ziehen. Sie müssen dort ruhig, sich selbst überlassen, stehenbleiben (s. a. Reg. IV Spirogyra-Kultur) und können so auch überwintern.

Für anhaltende Kultur der meisten Süßwasseralgen[1]) empfiehlt es sich, größere Aquarien anzuwenden, etwa solche, die 30—40 l Wasser aufnehmen können. Ein solches Aquarium wird von Glaswänden gebildet, die in Metallrahmen stecken. In der Mitte des Bodens befestigt man zwei aufrechte Röhren, von denen die eine an die Wasserleitung angeschlossen ist, die andere für den Ablauf sorgt. Mit der Zuleitungsröhre wird ein gebogenes Rohr beweglich verbunden, damit der eintretende Wasserstrahl nach verschiedenen Stellen des Aquariums geführt werden kann. Die Mündung dieses Rohrs muß sich stets etwa 10 cm unter der Wasseroberfläche befinden. Ein Abflußrohr bestimmt die Höhe der letzteren. Es ist mit passendem Deckel versehen, damit schwimmende Algen nicht in seine Mündung mit hineingerissen werden. Es ist überhaupt gut, wenn die Algen im Aquarium befestigt sind, sei es durch Steine, sei es durch einzelne an der Glaswand emporgezogene und dort angetrocknete Fäden. In Aquarien, wie das geschilderte, sind die Algen nicht nur dauernd mit frischem Wasser versorgt, sondern auch einer erwünschten, kühlen Temperatur ausgesetzt. Direkte Sonnenbeleuchtung muß stets ausgeschlossen bleiben. — Für bestimmte Zwecke gilt es, die Algen in Nährstofflösungen zu kultivieren[2]). Besonders empfiehlt sich hierzu die sog. KNOPsche Nährlösung, die auf 4 T. salpeters. Kalk, 1 T. schwefels. Magnesia, 1 T. salpeters. Kali, 1 T. primäres, phosphors. Kali enthält. Für die Bereitung muß man zunächst die beiden Kalisalze und Magnesia auflösen und nach der geeigneten Verdünnung das für sich aufgelöste Kalknitrat hinzufügen. Unter solchen Umständen scheidet sich nur ein geringer Teil der unlöslichen Kalziumphosphate ab. Eisen hinzuzufügen ist im allgemeinen nicht nötig, da die Spuren, die mit dem Ausgangsmaterial und mit dem Wasser in die Kultur kommen, vollständig ausreichen. Man wendet diese Nährstofflösung in Konzentrationen von 0,2—0,5 $^0/_0$ Salzgehalt an.

Manche Süßwasseralgen aus rasch fließenden Wasserläufen lassen sich im Aquarium nicht dauernd kultivieren, können aber an fließenden Brunnen gedeihen, wenn sie in deren Wasser, mit den Steinen, an denen sie wachsen, gesetzt werden. So gelingt es beispielsweise, Ulothrix-Formen aus rasch fließenden Bächen in Kultur zu erhalten.

Selbst manche Meeresalgen lassen sich mit Erfolg auch im Binnenland in größeren Aquarien kultivieren[3]), wenn nur durch zeitweiligen Zusatz von Nitraten, Phosphaten und Jodiden der Alkalien und Erdalkalimetalle zum Seewasser[4]), in dem die Algen sich befinden, für ihre Er-

[1]) Nach G. KLEBS, Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen, 1896, S. 9. Vgl. üb. Kultur der Algen den entspr. Abschnitt in FR. OLTMANNS, Morphologie und Biologie der Algen, II. Bd., 1905, S. 385 ff., u. 2. Aufl. Bd. III, 1922, ferner E. KÜSTER, Kultur der Mikroorganismen, 3. Aufl., 1921, S. 110ff.; O. RICHTER, Die Bedeutung der Reinkultur, 1907, S. 3, und Derselbe, Die Ernährung der Algen, Monogr. usw. der ges. Hydrobiologie und Hydrographie, Bd. II, 1911. In allen diesen Werken die zugehörige Literatur.

[2]) Nach G. KLEBS, l. c., 1896, S. 8.

[3]) Nach FR. NOLL, Flora, Bd. LXXV, 1892, S. 281; vgl. auch FR. OLTMANNS, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXIII, 1892, S. 349; ferner Flora, Bd. LXXX, 1895, S. 38, und Reg. IV Algen.

[4]) Über Herstellung von künstlichem Seewasser s. Reg. IV.

nährung entsprechend gesorgt wird. Nitrat ist als salpeters. Kali, Jod als Jodkali durch Zusatz eines bis einiger Tropfen der Lösung, Phosphat als phosphors. Kalk im Wasser suspendiert, außerdem eine Spur Eisenvitriol den Pflanzen zu bieten. Die Mischung muß sehr vorsichtig mit einem Glasstab vorgenommen werden, da die Meeresalgen in der Kultur durch heftigere Beunruhigung leiden. Allzu intensives Licht ist von der Kultur fernzuhalten, die dem Fenster zugekehrte Seite des Aquariums mit weißem oder farbigem Papier zu bekleiden, da ja in der Natur die Meeresalgen nur wenig Seitenlicht erhalten. Die Temperatur des Wassers dürfte nicht über 10—12° steigen. Wenn die Kultur sich dauernd halten soll, kommt es sehr darauf an, daß die Bedingungen in ihr stets die gleichen bleiben. Im besonderen sieht man dann die im Aquarium selbst neu erzeugten Teile der Pflanze, sowie junge, dort erwachsene Individuen kräftig gedeihen. Vor solchen Algen, die sich durch Schwärmsporen zu rasch vermehren, wie Ulven, Enteromorphen, ist in Aquarien mit gemischter Kultur zu warnen. Eine besondere Durchlüftung in Aquarien, die Reinkulturen in geringer Zahl von Exemplaren enthalten, ist überflüssig; anders in Aquarien mit gemischtem Inhalt und größerer Individuenzahl. Da führe man ein Rohr in das Aquarium ein, dessen Mündung möglichst weit von den Algen abliegt und sorge durch entsprechende Vorrichtung dafür, daß aus ihm etwa 15 erbsengroße oder noch kleinere Luftblasen innerhalb von je 10 Sek. in das Wasser in fortdauernd gleichmäßigem Tempo eintreten. Die eingeleitete Luft darf in keiner Weise verunreinigt sein, auch keinesfalls Tabaks- oder Kohlenqualm enthalten. Tiere mit den Pflanzen im Aquarium zusammenzuhalten, bringt oft Störung. Bemerkt sei schließlich, daß die Bedingungen, unter denen die verschiedenen Arten der Algen im Meer gedeihen, sehr verschieden sind, und daß sich im Aquarium nicht allen diesen Bedingungen zugleich, manchen überhaupt nicht, genügen läßt.

Um kleinere Algenformen, die auf bestimmten Entwicklungszuständen einander mehr oder weniger gleichen, stets sicher zu sondern, gilt es auch, die Methoden der Reinkulturen zu Hilfe zu nehmen[1]). Die Kultur auf Gelatine (vgl. a. S. 430) ist wegen der gleichzeitig erfolgenden Bakterienentwicklung nur in bestimmten Fällen zu empfehlen; so kann sie für Algen, die eine entschiedene Vorliebe für organische Stoffe haben, Vorteil gewähren. Sonst empfiehlt sich die Benutzung von Nährstofflösungen, unter Umständen auch anderer fester Nährmedien (vgl. a. S. 444). — Hat man im Freien gesammelte Algen in einer 0,2—0,4-proz. Knopschen Lösung ans Licht gebracht, so findet in dieser alsbald eine lebhafte Algenvegetation statt, und es gilt nun, aus der Lösung bei schwacher Vergrößerung mit einer feinen Glaspipette die einzelnen Exemplare der Spezies, die man rein weiter kultivieren will, herauszufischen. Diese bringt man in einen Wassertropfen, aus dem man sie nach weiterer Kontrolle mit der Glaspipette nochmals auffängt, um sie in sterilisierte Nährstofflösung zu übertragen. Daß auch für diese Reinkulturen nur sterilisierte Nährlösungen angewandt und nur sterilisierte Gefäße und Utensilien benutzt werden dürfen, ist selbstverständlich. Für die Reinkulturen empfehlen sich Glas-

[1]) Nach G. Klebs, l. c., 1896, S. 183 ff.; s. a. Fr. Oltmanns, Morphol. u. Biol. d. Algen, II. Bd., 1905, S. 386; O. Richter, Die Bedeutung der Reinkultur, 1907; E. Pringsheim, Cohns Beitr. z. Biol. d. Pfl., Bd. XI, 1912, S. 305, ferner Ebenda, Bd. XII, 1914, S. 14, 54 u. 415; R. Glade, Ebenda, S. 302; H. Maertens, Ebenda, S. 440; schließlich R. Harder, Zeitschr. f. Bot., Bd. IX, 1917, S. 155. Über bakterienfreie Algenkulturen vgl. S. 446.

dosen mit übergreifendem Deckel, der Luftzirkulation gestattet und doch vor Staub schützt. Für die Kultur auf festen Substraten empfiehlt sich sterilisierter, mit Nährlösung durchtränkter Sand und feuchter Lehm, auch wohl Rindenstücke. Durchsichtiger Nährboden wird aus Kieselgallerte oder auch Agar-Agar (vgl. a. S. 430 und 444) hergestellt, von dem man 0,5 g in 100 ccm 0,2—1-proz. Nährlösung einweicht, erhitzt, filtriert und sterilisiert.

Die Zellen der Spirogyra majuscula sind in ausgewachsenem Zustand etwa $1^1/_2$—2mal so lang als dick (Fig. 175). Die Zellhaut wird von einem zarten, farblosen, zytoplasmatischen Wandbeleg bekleidet, der deutlich sichtbar wird, wenn man die Zelle plasmolysiert, d. h. ihren protoplasmatischen Zelleib durch wasserentziehende Mittel, etwa Zuckerlösung, Glyzerin, Kochsalz- oder Salpeterlösungen zur Kontraktion bringt (vgl. S. 144). Im farblosen Wandbeleg verlaufen 8—10 Chlorophyllbänder, die meist ziemlich steil und eng gewunden erscheinen. Die Bänder haben einen zierlich gebuchteten Umriß und sind durchsichtig genug, um den Einblick in das Innere der Zelle zu gestatten. In unregelmäßigen Abständen sind den Bändern dichtere, kugelige, farblose Körper eingebettet, die uns bereits bekannten Pyrenoide. Diese Pyrenoide sind von einer hohlkugeligen Schicht kleiner Stärkekörner umhüllt. Der zentrale Kern ist bei dieser Spezies spindelförmig; wird er jedoch durch Druck auf die Zelle aus seiner Lage gebracht und nun von der Seite sichtbar, so präsentiert er sich als Scheibe. Er hat somit in Wirklichkeit die Gestalt einer bikonvexen Linse. In seiner Mitte liegt ein großes, deutliches Kernkörperchen; seltener sind zwei bis drei solche Kernkörperchen gleichmäßig im Innern des Kerns verteilt. — Bei anderen nahe verwandten Arten ist der Kern dicker und erscheint bei natürlicher Lage der Zelle als Rechteck mit abgerundeten Ecken. — Der Kern ist von einer sehr dünnen Zytoplasmaschicht umgeben, von der aus zarte Zytoplasmafäden nach der Peripherie der Zelle verlaufen. An diesen Fäden ist der Kern in dem mit Zellsaft erfüllten Saftraum der Zelle suspendiert. Die Fäden entspringen alle der schmalen Kante des Kerns, gabeln sich meist wiederholt in ihrem Verlauf und setzen an die Innenseite der Chlorophyllbänder, und zwar an die vorspringenden Stellen, welche Pyrenoide bergen, an. Man kann sich hiervon in den meisten Fällen leicht bei langsamer Veränderung der Einstellung überzeugen.

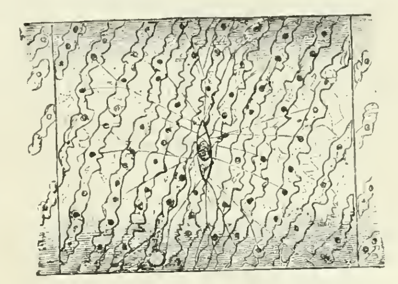


Fig. 175. Spirogyra majuscula. Zelle eines Fadens bei veränderten Einstellungen entworfen, auch der zentrale Zellkern und die ihn tragenden Fäden dargestellt. Vergr. 240.

Lebende Spirogyren sind zu Versuchen über die größere W i d e r s t a n d s k r a f t d e r z y t o p l a s m a t i s c h e n Grenzschicht, die den Zellsaft umschließt, besonders geeignet[1]). Läßt man eine 10-proz. Kalisalpeterlösung, die mit etwas Eosin gefärbt wurde, langsam auf diese Algen einwirken, so wird man in den meisten Zellen eine normale P l a s m o l y s e eintreten sehen. Es hebt sich das Plasma anfänglich von den Ecken,

[1]) H. de Vries, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XVI, 1885, S. 470.

dann von den Endflächen, später auch von den Seitenwänden ab und nähert sich mehr oder weniger der Kugelform. Der Farbstoff dringt durch die Zellwandung bis an den kontrahierten Protoplasten heran, zunächst aber noch nicht in ihn hinein. Nach 1—2 Std., wohl auch früher, beginnen die äußeren Schichten des Plasmas abzusterben und speichern alsdann den roten Farbstoff auf. Die Wand der Vakuolen, die den Zellsaft in sich fassen, zeigt aber noch keine Veränderung und ist für das Eosin undurchdringlich. Die Vakuolen liegen daher als farblose Kugeln im blaßroten Zellraum. Unter dem Druck der abgestorbenen, äußeren Plasmamasse werden die Zellsaftvakuolen öfters eingeschnürt, oder das tote Plasma schiebt sich von ihnen ab, um sie teilweise zu entblößen. — Bei zu raschem Einwirken der Salpeterlösung kann sofortige Tötung ohne Kontraktion der äußeren Plasmamassen erfolgen und nur die Wand der Vakuole am Leben bleiben. Diese Wand zieht sich dann von den äußeren abgestorbenen Plasmamassen zurück und rundet sich in kürzeren Zellen zu einer, in längeren zu mehreren, sich voneinander durch Abschnürung trennenden Kugeln ab. Für diese resistentere Wand der Vakuolen, die sich oft tagelang noch am Leben halten kann, wurde von de Vries der Name Tonoplast vorgeschlagen.

Bei hinreichend starker Vergrößerung kann man zahlreiche feine Strömungen und lebhafte Wanderungen von Mikrosomen in den Plasmasträngen und dem Wandbeleg der Zelle beobachten. Auch zeigen sich bei manchen Arten besonders deutlich und zahlreich im Zellinnern kleine Kristalle von oxalsaurem Kalk, und zwar in Form von Nadeln, schief abgestutzten Säulen, einzeln oder paarweise sich kreuzend. Der Zellsaft ist gerbstoffhaltig[1]).

Mit Chromsäure, den Chromsäuregemischen (s. S. 398), auch mit Pikrinsäure, läßt sich Spirogyra vorzüglich fixieren, und zwar so, daß alle Teile ihr ursprüngliches Aussehen und ihre Lage behalten. Die 1-proz. Chromsäure muß mehrere Std. einwirken; die Osmiumsäure enthaltenden Chromsäuregemische nur $^1/_2$ Std.; Pikrinsäure gegen 12 Std., weil dann erst die Chlorophyllkörner sich vollständig entfärbt zeigen. Werden die nach einer dieser Methoden fixierten Präparate sorgfältig in Aq. dest. ausgewaschen (vgl. auch S. 410) und mit Grenacherschem Borax-Karmin oder Hämalaun, evtl. die Pikrinsäure-Präparate mit Hämateïn-Ammoniak gefärbt, so treten die einzelnen Teile scharf hervor. Mit Karmin erscheint das Kernkörperchen dunkel, der übrige Kerninhalt weniger intensiv gefärbt. Schön rosa sind die Chlorophyllbänder; dunkler, doch nicht so dunkel wie das Kernkörperchen, die Pyrenoide; die Stärkehüllen um die Pyrenoide sind hingegen weiß geblieben; etwas gefärbt sind auch die Mikrosomen, wie man das namentlich an den von den Chlorophyllbändern freigelassenen Teilen des Wandbelegs erkennen kann. Ähnliche Verhältnisse geben die Hämalaun- und Hämateïn-Färbungen; die Mikrosomen treten bei diesen aber schärfer hervor. — Sehr schöne Färbungen des Zellinhalts der Spirogyren sind mit Safranin zu erreichen, doch bietet die Anwendung dieser Methode, bei der die Zellen meist zusammensinken, einige Schwierigkeiten. Die mit Chromsäure oder deren Gemischen fixierten, sehr gut ausgewaschenen Fäden werden in Safraninlösung übertragen. Diese bereiteten wir uns, indem wir Safranin in Alk. abs. lösten und vor dem Gebrauch bis auf die

[1]) Vgl. über den Nachweis des Gerbstoffs bei Spirogyren und seine physiol. Bedeutung für die Pflanze C. van Wisselingh, Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. XXXII, 1. Abt., 1915, S. 155 ff.

Hälfte mit Aq. dest. verdünnten. Die Fäden bleiben 12—24 Std. in der Farbe, worauf sie in 50-proz. Alkohol übertragen werden, dem man tropfenweise Alk. abs. zusetzt. Bevor der Farbstoff dem Präparat entzogen worden ist, beginnt man mit ganz allmählichem Zusatz von verharztem Terpentinöl, während man gleichzeitig die Flüssigkeit schüttelt. Die vorhandene Flüssigkeit wird langsam abgegossen, während man Terpentinöl fort und fort zuführt, bis der Alkohol so gut wie beseitigt ist. Das Präparat schließt man hierauf in Terpentinöl ein. Glückt die Operation, so sind die Zellen nicht zusammengefallen und zeigen auffallend schöne Färbung. Die Schrumpfung ist zu vermeiden[1]), wenn die mit Chromsäure oder Chromsäuregemischen fixierten Spirogyren in wässr. Safraninlösung 24, oder in GRENACHERschem Borax-Karmin 48 Std. gefärbt werden, hierauf in 5-proz. Glyzerinlösung gelangen, und diese an einem warmen Ort sich langsam konzentriert. Nachdem dies geschehen, kann in Alk. abs. übertragen werden, ohne daß Schrumpfung erfolgt. Hierauf setzt man dem Alkohol tropfenweise venezian. Terpentin zu, bis die erwünschte Konzentration erreicht ist. In dieses wird das Objekt eingebettet. Das venez. Terpentin hat als Einschlußmedium den Nachteil, daß es zu langsam fest wird. Man kann dem nachhelfen, indem man den Rändern des Deckglases einen erhitzten Metalldraht anlegt oder sie mit Kanadabalsam umzieht. — Bei so leicht schrumpfenden Objekten, wie dem vorliegenden, kann es sich empfehlen, die Überführung aus den wässr. Flüssigkeiten in den Alk. abs. in einem nach dem Prinzip des Dialysators konstruierten Entwässerungsapparat[2]) vorzunehmen. Der Apparat besteht aus einem breiten Glasrohr mit oberer, quer nach außen abstehender Ringplatte, das die Gestalt eines Zylinderhutes ohne Boden hat. Statt dieses Bodens ist die untere Öffnung mit dünnem Briefpapier, das ringsum mit Leim am Glas befestigt ist, verschlossen. Das hutförmige Glasgefäß steckt in einem größeren Glas, auf dessen Rand es mit dem eigenen Rand genau paßt. Verschlossen wird das Glas mit einem in der Figur nicht dargestellten, glockenförmigen Deckel. In dem inneren, hutförmigen Gefäß befindet sich das langsam zu entwässernde Objekt in wässr. Alkohol, in dem großen Gefäß Alk. abs. Es steigert sich nunmehr durch Diffusion die Konzentration des Alkohols in dem hutförmigen Gefäß, das schließlich fast Alk. abs. enthält. Man kann den Vorgang noch verlangsamen, indem man zwei hutförmige Gefäße, deren äußeres nur wenig größer ist, ineinandersteckt und sie dann erst in das große Glas einsetzt (vgl. Fig. 176). Das innere, hutförmige Gefäß enthält den schwächsten, das äußere stärkeren, das große Gefäß Alk. abs. Durch geglühtes Kupfer- oder Natriumsulfat auf dem Boden des großen Gefäßes kann ein Wässrigwerden des Alkohols verhindert werden. Zum Verschluß der beiden hutförmigen Gefäße empfiehlt sich dasselbe dünne Briefpapier. Dadurch, daß man dieses Papier einfach oder doppelt anwendet, gelingt es, die Konzentration der inneren Flüssigkeit schneller oder langsamer zu steigern, ebenso durch Änderung der Niveaudifferenz zwischen den Flüssigkeiten. Um festzustellen, daß der Alkohol in dem inneren Gefäß die nötige Konzentration erlangt hat, läßt man einen Tropfen davon aus einer spitz ausgezogenen Pipette in die Mitte eines im Reagenzglas befindlichen 98-proz.

---

[1]) A. NATHANSOHN, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXV, 1900, S. 60.

[2]) Nach FRANZ EILHARD SCHULZE, Arch. f. mikrosk. Anat., Bd. XXVI, S. 539. Der Apparat (Preis 110 M) ist zu beziehen von *Bartsch, Quilitz & Co.*, Berlin, und den *Vereinigten Lausitzer Glaswerken.*

Alkohols langsam austreten, während man gleichzeitig bei durchfallendem Licht beobachtet; ist in der Pipette Alk. abs., so steigt eine Schlieren bildende, kleine Menge davon in die Höhe; ist der Alkohol in der Pipette unter 98%, so tritt die entgegengesetzte Erscheinung ein. Hat man den Wunsch, den jeweiligen Konzentrationsgrad des Alkohols, in dem sich die zu entwässernden Objekte befinden, genauer zu kontrollieren, so bedient man sich am besten des eigens für solche Zwecke nach der Angabe von Mencl von der Firma *J. Greiner*-München angefertigten kleinen Alkoholometers[1]), den man in die Flüssigkeit versenkt und an dessen Grad-

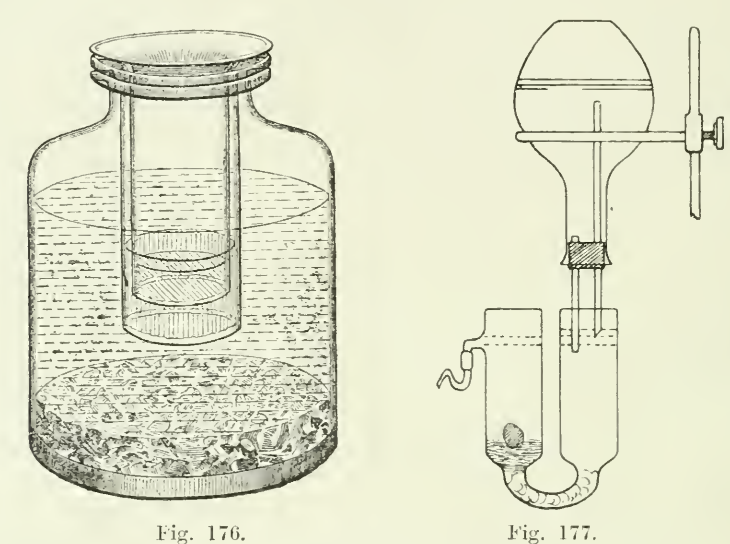


Fig. 176. Fig. 177.

Fig. 176. Entwässerungsgefäß nach F. E. Schulze.
Fig. 177. Entwässerungsapparat von B. Suzuki.

einteilung man den Alkoholgehalt bequem ablesen kann. — Eine einfache Entwässerungsvorrichtung ist ferner von Suzuki[2]) angegeben worden (Fig. 177). Sie besteht zunächst aus zwei am Boden durch ein Glasrohr U-förmig verbundenen Glaszylindern von 3 cm Durchmesser und 9 cm Höhe und etwa 80—100 ccm Rauminhalt. An dem einen Zylinder, und zwar jenem, durch den das Ablaufen der Flüssigkeit erfolgen soll, ist etwa 6 mm vom oberen Rand auf der dem anderen Zylinder abgewendeten Seite ein nach abwärts gebogenes Ablaufrohr angebracht, das durch einen Gummischlauch mit einem geknickten, in eine feine Kapillare ausgezogenen Glasröhrchen verbunden ist. Der zweite Teil des Apparats, die Füllflasche, besteht aus einem Glaskolben, der umgekehrt in dem Ringhalter eines Stativs aufgehängt und durch einen Kautschukstopfen verschlossen ist, in dem zwei ungleich lange Röhren stecken, das Zuflußrohr und das der Luftzufuhr dienende Regulierrohr. Beim Gebrauch des Apparats verstopft man das Verbindungsrohr zwischen den beiden Glaszylindern fest mit entfetteter Watte, legt in den Ablaufschenkel ein mehrfach gefaltetes Gazestück hinein und füllt noch Sand bis zu 1 cm Höhe auf, den man mit

[1]) E. Mencl, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXIII, 1906, S. 423.
[2]) B. Suzuki, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXVI, 1909, S. 211.

einer dünnen Gazeschicht oder Fließpapier bedeckt. Hierauf kommt das Präparat zu liegen. Dann füllt man den übrigbleibenden Raum des Doppelzylinders mit Aq. dest. und die Füllflasche mit 50- oder höherproz. Alkohol. Das längere Regulierrohr wird dabei so eingestellt, daß es nach Abgabe von 10 ccm Alkohol mit der unteren Spitze eintaucht und sich so automatisch verschließt. (Die verschiedenen Niveaus vor und nach dem Einlaufen bzw. beim Ablaufen der Flüssigkeit sind durch die gestrichelten Linien in der Figur gekennzeichnet.) Durch das Ablaufrohr am anderen Zylinder tropft die Flüssigkeit so ab, daß in einer Min. etwa 0,5—1,0 ccm entweichen. Das Einlaufen neuen Alkohols aus der Füllflasche verursacht einen Wirbel, durch den eine Mischung der Flüssigkeiten herbeigeführt wird. Der Watte- und Sandverschluß verlangsamt das Vordringen der Flüssigkeit und bewirkt ein ganz allmähliches Ansteigen des Alkoholgehalts in der das Präparat umgebenden Flüssigkeit. Ist die Flasche geleert, so füllt man sie mit höherproz. Alkohol. — Unter Umständen kommt man auch einfacher zum Ziel, wenn man das Präparat in einigen Tropfen wässr. Alkohols in Uhrgläschen oder direkt auf dem Objektträger, im letzteren Fall mit Vaseline umrandet und ohne Deckglas, auf ein Gestell in eine dichtschließende Glasschale setzt, die im unteren Teil mit Alk. abs. erfüllt ist. Die Konzentration des das Präparat umgebenden Alkohols steigt dann allmählich und hat in 12—24 Std. die nötige Höhe erreicht. Schrumpfung beim Entwässern besonders empfindlicher Algen läßt sich auch vermeiden, wenn man das fixierte, ausgewaschene und gefärbte Material, das nunmehr entwässert werden soll, zunächst in 10-proz. Glyzerin überträgt und diese Lösung durch Verdunsten an einem trockenen Ort sich konzentrieren läßt. Hat das Glyzerin den größten Teil seines Wassers eingebüßt, so lassen sich die in ihm befindlichen Algen direkt in Alk. abs. überführen[1]). — Um die Überführung eines Präparats aus dem Alk. abs. in Kanadabalsam etwa, der in Xylol gelöst ist, ohne Schrumpfung auszuführen, kann man das Senkverfahren in Anwendung bringen[2]). Man stellt sich zu diesem Zweck drei übereinanderliegende Flüssigkeitsschichten her. Die unterste ist eine Lösung von Kanadabalsam in Xylol; die mittlere, etwa 3mal so hohe, reines Xylol; die oberste, wiederum etwa 3mal niedrigere, Alk. abs. Die entwässerten, in Alk. abs. befindlichen Objekte werden nun in die oberste Schicht gebracht; sie sinken, falls ihr spezifisches Gewicht nicht ungewöhnlich gering ist, sehr langsam, etwa im Lauf eines halben Tags, bis in die Kanadabalsamlösung hinab. Zweckmäßig ist es, zu dieser Manipulation ein Glasgefäß mit seitlichem Abflußhahn anzuwenden, der genau über dem Kanadabalsam liegt (vgl. Fig. 178). Ist nun das Objekt bis in den Kanadabalsam gesunken, so öffnet man den Hahn, läßt Xylol und Alk. abs. abfließen und nimmt es aus dem Kanadabalsam her-

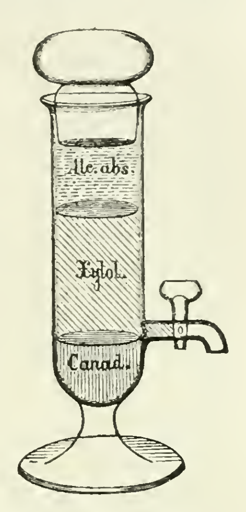


Fig. 178. Senkzylinder nach F. E. Schulze.

[1]) E. Overton, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. VII, 1890, S. 12.

[2]) Nach F. E. Schulze, l. c., S. 542. Der Apparat ist von *Bartsch, Quilitz & Co.* zum Preise von 120 M zu beziehen; auch die *Vereinigten Lausitzer Glaswerke* liefern diese Senkzylinder.

aus oder gießt es mit dem Kanadabalsam in ein flaches Gefäß um. In manchen Fällen wird man mit folgendem Verfahren[1]) bessere Ergebnisse erzielen. Man läßt in ein zur Hälfte mit Alk. abs. gefülltes, die Objekte enthaltendes Reagenzglas aus einem Tropftrichter, dessen Ende 2—3 cm über dem Alkohol sich befindet, in langen durch den Hahn des Trichters regulierbaren Zwischenräumen Xylol eintropfen, das allmählich nach unten zu den Objekten herabsinkt. Der Alkohol wird nun in dem Maße, als Xylol zutropft, emporsteigen, dann über- und schließlich vollständig abfließen. Die so in reinem Xylol liegenden Objekte bringt man in einen stark mit Xylol verdünnten Tropfen Kanadabalsam auf den Objektträger und läßt auf einem Wärmeschrank den Überschuß des Xylols langsam verdunsten. — Um leicht schrumpfende Algen aus Alk. abs. in Nelkenöl oder dergl. zu übertragen, kann man sie auch in ein Uhrglas mit 10-proz. Lösung dieses Öls in Alk. abs. legen[2]). Man stellt dann dieses Uhrglas in eine mit Glastafel abzuschließende Kristallisierschale, in der sich am Boden Chlorkalzium-Stückchen, die den Alkohol allmählich absorbieren, befinden. Ist das geschehen, so überträgt man in sehr verd. Balsam. Man kann das Material auch aus dem Alk. abs. in wasserfreies Chloroform, aus diesem in eine 10-proz. Lösung des Öls in Chloroform übertragen und dann in die Chlorkalzium enthaltende Kristallisierschale stellen. Auf solche Weise wird ein zu starkes Ausziehen des Farbstoffs durch Alkohol vermieden. Wünscht man die Übertragung in den Balsam durch Xylol zu vermitteln, so gießt man Xylol in die Kristallisierschale und stellt das Objekt, das man in Alk. abs. in ein Uhrglas brachte, hinein. Es findet dann durch Diffusion Ersatz des Alkohols durch Xylol statt, bis schließlich das Uhrglas fast nur noch reines Xylol enthält. So läßt sich auch etwa 20-proz. Alkohol, wenn man in diesem das Objekt innerhalb des Uhrglases in die Kristallisierschale stellt, ganz durch Alk. abs. ersetzen, wenn letzterer sich in der Kristallisierschale befindet.

Von erfahrener Seite ist die Chrom-Essigsäure, und zwar aus 70 ccm 1-proz. Chromsäure, 5 ccm Eisessig und 90 ccm Wasser (das nicht destilliert zu sein braucht), als ein Fixierungsmittel bezeichnet worden, das sich durchgängig bei Algen bewährt[3]). Für Spirogyren speziell hat sich die Zusammensetzung 1 g Chromsäure, 4 ccm Eisessig und 400 ccm Wasser als die beste erwiesen[4]). Die stärkere Flemmingsche Lösung von Chrom-Osmium-Essigsäure (S. 64) gibt nach einhalbstünd. Einwirkung namentlich bei Fixierung der Zellkerne gute Resultate[5]). Das Volumen dieser Lösungen muß wenigstens das Hundertfache des der zu fixierenden Alge betragen. Man rühre das Material in der Flüssigkeit mit einem Glasstäbchen um; falls es kalkhaltig ist, gilt es, die Flüssigkeit bald durch neue zu ersetzen. Die Einwirkung kann bis 24 Std. dauern. Dann wird unter häufigem Wasserwechsel 2—4 Std. gut ausgewaschen. In 10-proz. Glyzerin mit etwas Kampfer halten sich die fixierten Algen jahrelang. Gilt es, sie weiterhin für Färbung und Einbettung zu entwässern, so verfährt man folgendermaßen[6]). Man überführt

---

[1]) Nach H. v. Neuenstein, Arch. f. Zellforschg., Bd. XIII, 1914, S. 83.

[2]) E. Overton, l. c., 1890, S. 12.

[3]) Von F. Pfeiffer v. Wellheim, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXVI, 1894, S. 674.

[4]) Nach Ch. J. Chamberlain, Methods in Plant Histology. 3. Aufl., Chicago, 1915, S. 176.

[5]) Nach H. v. Neuenstein, l. c., 1914, S. 81.

[6]) Nach den Angaben von F. Pfeiffer v. Wellheim, l. c., 1894, modifiziert von Ch. J. Chamberlain, l. c., 2. Aufl., 1910, S. 81 ff., bzw. 3. Aufl., 1915, S. 100.

zunächst das Material in flache Schalen mit 10-proz. Glyzerin, das man staubfrei an der Luft bei Zimmertemperatur sich konzentrieren läßt. Nach 3—4 Tagen wäscht man das Glyzerin mit mehrmals zu wechselndem 95-proz. Alkohol aus und bringt die Objekte in eine 1-proz. Lösung des einfachen (nicht mit echt bezeichneten) Magdalarot in 90-proz. Alkohol, spült eine Min. in 90-proz. Alkohol ab und überträgt in eine viermal mit 90-proz. Alkohol verdünnte 1-proz. Lösung von Anilinblau in 90-proz. Alkohol, in der man sie je nach der Aufnahmebegierigkeit der Fäden für den Farbstoff, die man zunächst durch Einlegen einiger Fäden ausprobiert, 3—30 Min. läßt. Nach Auswaschen in 90-proz. Alkohol folgt für einige Sek. eine Behandlung der Objekte mit Säurealkohol (1 Tropfen Salzsäure auf 30 ccm 90-proz. Alkohol), wobei das Magdalarot bis zu einem gewissen Grade ausgezogen, das Anilinblau dagegen fixiert wird. Überfärbung mit Anilinblau kann durch 90-proz. Alkohol gemindert werden, eine solche mit Magdalarot dadurch, daß man die fertigen Präparate dem Sonnenlicht aussetzt. Das gefärbte Material gelangt nunmehr in eine flache Schale (Uhrglas o. ä.) mit 10-proz. venezian. Terpentin unter einen Chlorkalzium-Exsikkator, den man möglichst vor Licht geschützt aufstellt. Nach 1 bis 2 Tagen wird das Terpentin bis zur Konsistenz des zum Einschließen von Präparaten gebräuchlichen Kanadabalsams konzentriert sein. Ist es schon dicker geworden, so füge man einige Tropfen dünnflüssigen venezian. Terpentins hinzu. Der Einschluß erfolgt in venezian. Terpentin. In gut gelungenen Präparaten erscheinen die Kerne und Pyrenoide leuchtend rot, die Chromatophoren und das Zytoplasma tief blau, die Zellwände hellblau. Für Algen mit starken Gallerthüllen ist Anilinblau nicht zu brauchen, da es diese mitfärbt. — Auch nach peinlichster Innehaltung der Färbevorschriften gelingt es nicht immer, die Kerne mit Sicherheit zu erkennen. In solchen Fällen kann man sich dadurch helfen, daß man auf die gefärbten Objekte etwas Chloralhydrat (5 T. auf 1 T. Wasser) einwirken läßt. Der ganze Zellinhalt, auch der Kern, verquillt dann etwas; dabei diffundiert die Farbe aus dem übrigen Zellinhalt bis auf den Kern, der seinen Farbstoff vollständig festhält. Durch Behandlung mit Chloralhydrat, dem soviel Jod zugesetzt wurde, daß die Lösung gelbbraun bis gelb aussieht, kann man die Pyrenoide, deren Stärkehof sich blau färbt, meist leicht von den Kernen unterscheiden[1]). — Gilt es scharfe Konturen im Zellinhalt und Differenzierungen innerhalb der Zellwand zu erzielen, so empfehlen sich Eisenfärbungen. Die Algen gelangen für mindestens 1 Std., unter Umständen auch länger, in eine konz. Lösung von Eisenchlorid in etwa 95-proz. Alkohol. Hierauf wird unter häufigem Wechsel stunden- bis tagelang in 95-proz. Alkohol ausgewaschen. Dann setzt man diesem Alkohol einige Tropfen einer konz. Lösung von Gallussäure in 95-proz. Alkohol hinzu. Tritt zu starke Färbung ein, so wird in 1-proz. Säurealkohol ausgewaschen, der sofort auf das sorgfältigste durch neutralen zu ersetzen ist. Statt Gallussäure kann man Echtgrün oder Galleïn anwenden. Die Struktur der Zellhaut wird besonders durch das letztere gut angezeigt. Die Alge gelangt nach der Eisenbehandlung in verd. Galleïnlösung, und zwar 1 T. konz. Galleïnlösung in 80—95-proz. Alkohol auf 9 T. 80—95-proz. Alkohol. Die Einwirkung hat mehrere Std. zu dauern. Ist die Färbung gut gelungen, so erscheint die Alge graublau bis stahlblau. Überfärbung ist mit Salzsäure-Alkohol zu beseitigen. Solche Eisenpräparate können mit Magdalarot

[1]) Nach H. v. Neuenstein, l. c., 1914, S. 84.

weiter nachgefärbt werden. Das gelingt am besten durch eine Spur alkohol. Magdalarotlösung, der man dann 10 % venezian. Terpentin hinzufügt, so daß sich die Lösung lichtrosa gefärbt zeigt. Die Deckglasumrahmung für Präparate, die in venezian. Terpentin liegen, ist mit Kanadabalsam zu vollziehen, oder besser noch mit WITTschem Zement. Man trägt ihn erst auf, nachdem das Terpentinpräparat einige Tage ruhig an der Luft lag und etwas getrocknet ist. Will man die Präparate, welche die alkohol. Lösungen passierten, in Glyzerin oder Glyzerin-Gelatine einbetten, so muß die Alge zunächst in ein Gemisch von 1 T. Wasser und 2 T. säurefreiem Glyzerin gelangen, dann diese Glyzerinlösung langsam im Exsikkator konzentriert werden[1]). Für die Fixierung der Algen wird auch ein Gemisch von gleichen Teilen 40-proz. Formols, Holzessigs (acet. pyrolignos. puriss.) und Methylalkohols (rect. pur.) noch ganz besonders empfohlen[2]) (s. a. S. 423). Dieses Gemisch kann man vorrätig halten. Um es zu verwenden, setzt man den Algen, nach Abgießen des überschüssigen Wassers, ein Quantum dieses Gemisches, das mindestens das Doppelte des mit den Algen zurückgebliebenen Wassers betragen muß, hinzu. Dabei wird wiederholt aufgeschüttelt. Die Algen können Wochen und Monate ohne Schaden in dieser Flüssigkeit verbleiben. Man kann diese aber auch nach einiger Zeit vorsichtig abgießen und durch Kampfer-Wasser oder durch 10-proz. Glyzerinwasser mit Kampfer ersetzen. Handelt es sich jedoch um gallertartige Algen, so muß ein direktes Überführen aus der Fixierungsflüssigkeit in starken Alkohol erfolgen. Auch die anderen Algen sind vor ihrer Färbung in Alkohol zu übertragen, da durch die Fixierungsflüssigkeit die Algenfarbstoffe nur unvollständig zerstört werden. Die Übertragung hat in der vorhin angegebenen Weise durch Vermittlung des Glyzerinverfahrens im Exsikkator oder der Diffusion in einer mit starkem Alkohol beschickten Glasdose, in welche die Algen in kleinen Gläschen mit möglichst wenig Fixierungs- bzw. Aufbewahrungsflüssigkeit gestellt werden, zu erfolgen. — Eine besonders gute Färbung der mit Formol-Holzessig-Methylalkohol fixierten Algen kann durch die Eisen-Karmintinktion[3]) geschehen. Hierzu sind zwei Lösungen nötig. I. 100 ccm 50-proz. Alkohol und 1—3 ccm konz. Eisenchloridlösung in 95-proz. oder abs. Alk. II. Eine konz. Lösung reinster Karminsäure in 50-proz. Alkohol. Die zu färbenden Objekte müssen bereits in Alkohol von wenigstens 50 % liegen und von Formol und ihren Farbstoffen durch diesen befreit sein. Aus dem Alkohol gelangen sie zunächst in die Lösung I, und zwar für wenigstens 4—6 Std., dann in 50-proz. Alkohol, der mehrmals gewechselt wird, um das überschüssige Eisenchlorid zu beseitigen. Den in 50-proz. Alkohol liegenden Objekten werden nun einige Tropfen der Lösung II zugesetzt. Die Färbung, die mehr oder weniger schwarz erscheint, ist nach einigen Std. vollendet. Dann werden die Objekte durch Vermittlung des Glyzerinverfahrens in 95-proz. Alkohol übergeführt und in venezian. Terpentin eingeschlossen.

Sehr zarte Algen, die in Chromsäure, bzw. Chromsäuregemischen fixiert worden sind und die schwer gut auszuwaschen sind, übertrage man nach kurzem Ausschwenken in Wasser in eine schwache, wässr. Lösung von schwefliger Säure, hierauf für kurze Zeit wieder in Wasser. Die Aus-

---

[1]) Nach F. PFEIFFER v. WELLHEIM, l. c., 1894, S. 702.

[2]) F. PFEIFFER v. WELLHEIM, Österr. bot. Zeitschr., Bd. XLVIII, 1898, Nr. 2 und 3.

[3]) F. PFEIFFER v. WELLHEIM, l. c., 1898, S. 103.

waschung ist dann eine vollkommene. Das Verfahren empfiehlt sich auch für andere zarte Pflanzenteile, die man in Chromsäure, Chromsäuregemischen oder Kaliumbichromat fixiert hat[1]). Auch kann man sich dadurch helfen, daß man die Algen vor oder nach der Fixierung in Fließpapier einlegt, das man zusammenfaltet und, mit einem kleinen Gegenstand (Glasstückchen o. ä.) beschwert, in fließendes Wasser bringt. Vorteilhaft ist es, im Fall die Algen schon fixiert sind, diese vor dem Auswaschen kurz mit Aq. dest. abzuspülen, dem zur Neutralisierung eine Spur Alkali zugesetzt wurde[2]).

Es ist für die Fixierung der Fadenalgen auch Jodwasser vorgeschlagen worden. Wir stellen uns dieses her, indem wir einige Jodblättchen in Wasser so lange erwärmen, bis sich violette Dämpfe über der Wasserschicht zu bilden beginnen. Das Wasser zeigt dann hellbraune Färbung; oder wir setzen zu Wasser tropfenweise alkohol. Jodlösung so lange hinzu, bis dieses Wasser sich ebenfalls hellbraun gefärbt zeigt. In solchem Jodwasser werden die Algenfäden etwa 1 Min. lang hin und her geschwenkt und hierauf in 50-proz. Alkohol übertragen. Nach wenigen Min. ist, wenn man den Alkohol wechselt, alles Jod wieder entfernt, und man kann die Objekte in beliebiger Weise färben. Diese Methode hat man ganz besonders für Meeresalgen empfohlen[3]), wobei aber das Jod nicht in Süßwasser, sondern in Seewasser angewandt wird. Durch Zusatz von ein wenig alkohol. Jodlösung hat man sich alsbald eine gesätt. Lösung in Meereswasser hergestellt. Die Fixierung von Seealgen hat man auch mit einer gesätt. Lösung von Pikrinsäure in Seewasser, die man mit dem drei- bis vierfachen Volumen von Seewasser versetzte, vorgenommen. Die betreffenden Algen werden $^1/_4$—2 Std. mit dieser Lösung behandelt, hierauf der Reihe nach in 30-, 50- und 90-proz. Alkohol übertragen[4]).

Zartere und derbere Formen von Phaeophyceen (Braunalgen) lassen sich gut in einem Gemisch von 1 g Chromsäure, 0,04 ccm Eisessig und 400 ccm Seewasser fixieren (s. a. die Fixierung von Fucus im XXII. u. XXXII. Abschn.). Die Dauer der Einwirkung des Fixierungsmittels soll 12—24 Std. betragen. Es folgt dann 3—4 Std. langes Auswaschen in Seewasser, worauf die zarteren Objekte in 10-proz. Glyzerin und nach Färbung mit Magdalarot und Anilinblau in der S. 405 geschilderten Weise in venezian. Terpentin überführt werden. Man kann sie aber auch nach dem Auswaschen in Alkohole von steigender Konzentration bis zu 70-proz. Alkohol überführen, in dem sie aufbewahrt werden können, um bei Bedarf in 85-proz. Alkohol, dann in die genannten Farblösungen und venezian. Terpentin übertragen, oder, was bei den derberen Formen das zweckmäßigere ist, zur Paraffineinbettung (s. S. 67 ff.) vorbereitet zu werden.

Zur Fixierung von Rhodophyceen (Rotalgen) ist neben der eben für die Braunalgen empfohlenen Chrom-Essigsäure auch das schwächere Flemmingsche Gemisch[5]) (s. S. 65) bei zarteren Objekten mit höchstens 1-stünd. Einwirkungsdauer, ferner das vom Rathsche Gemisch[6]) (500 ccm konz. wässr. Pikrinsäure, 3 ccm Eisessig, 5 g Platinchlorid in 5 ccm Wasser

[1]) E. Overton, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. VII, 1890, S. 10.
[2]) H. v. Neuenstein, l. c., 1914, S. 81.
[3]) G. Berthold, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XIII, 1882, S. 704, Anm.
[4]) F. O. Bower and S. H. Vines, Practical Botany, I. T., S. 2.
[5]) N. Svedelius, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXII, 1914, S. 49; s. a. Derselbe, Nova Acta reg. soc. scient. Upsaliensis, 1915, Ser. IV, Vol. 4, Nr. 4, S. 4.
[6]) Fr. Oltmanns, Bot. Ztg., LVI. Jahrg., I. Abt., 1898, S. 100.

gelöst, 2 g Osmiumsäure), das mit der zehnfachen Menge Seewassers verdünnt werden muß, sehr geeignet. Handelt es sich um Süßwasserformen, so ist natürlich statt des Seewassers bei Herstellung der Fixierungsmittel Süßwasser zu verwenden. Die Algen bleiben, je nach ihrer Natur, in dieser Mischung 1—5 Min., was auszuprobieren ist. Die Färbung gelingt am besten mit Hämalaun oder ganz verd. Hämatoxylinlösungen im Wärmeschrank bei ca. 60° oder auch mit Heidenhains Hämatoxylin-Eisenalaun mit einem Zusatz von Lichtgrün bei der Nelkenöl-Behandlung zwecks besonders guter Plasmadifferenzierung[1], weniger gut mit Karminfarben. Die Überführung in venezian. Terpentin ist nur für fädige Formen dieser Algen empfehlenswert[2].

Will man Algen, die in Chromsäure, in Chromsäuregemischen oder Pikrinsäure fixiert wurden, eine Zeitlang aufbewahren, um sie später zu färben, so geschieht dies am besten in Wasser, das mit einigen Kampferstückchen oder einigen Splittern von Naphtalin versetzt ist[3].

Für die Fixierung der Pyrenoide kann eine Mischung gleicher Teile einer 10-proz. Lösung von rotem Blutlaugensalz und einer 55-proz. Lösung von Essigsäure in Anwendung kommen. Es treten uns dann in manchen Fällen[4], namentlich nach Färbung mit Dahlia (Hofmanns Violett) und Quellung in verd. Kalilauge, die Pyrenoide als dichte Partien des Chlorophyllbandes entgegen, die mit ihm durch Plasmalamellen zusammenhängen. Zwischen diesen Plasmalamellen liegen die Körner der Stärkehülle, von der das Pyrenoid umgeben ist. Dem Pyrenoid kommt demgemäß eine sternförmige Gestalt zu. Man kann rasch instruktive Bilder erreichen, wenn man die Fäden mit kochendem Wasser behandelt, wobei die Pyrenoide fixiert und die Körner der Stärkehülle zur Quellung gebracht werden. Um die Gegenwart von Pyrenoiden in den Chromatophoren von Algen nachzuweisen, überfärbe man die mit Alk. abs. oder Flemmingschem Gemisch fixierten Objekte mit Säurefuchsin, behandle die Objekte auf dem Objektträger mit verd. Pikrinsäure und untersuche in verd. Glyzerin. Falls sie vorhanden, zeigen sich die Pyrenoide dann schön rot gefärbt. Statt Säurefuchsin läßt sich auch Rubin S. oder Coccinin zur Pyrenoidfärbung benutzen[5]. Die Pyrenoide sollen, wie Färbungsversuche mit Jodwasser-Eosin[6] an jungen Konferven zeigten, mittels direkter amöboider Kernfortsätze, die das Chromatophor und die Zwischenräume zwischen den Stärkekörnern durchdringen, mit dem Zellkern in Verbindung stehen[7].

Es gelingt, die Membranen bestimmter Algen zu färben, ohne den lebenden Zellinhalt zu schädigen[8]. Solche Algen geben erwünschte Objekte für das Studium des Membranwachstums ab. Taucht man eine kräftige, gesunde Caulerpa prolifera, eine im Mittelmeer sehr verbreitete Siphonee, für eine oder einige Sek. in ein Gemisch von 1 T. Seewasser und 2 T. Süßwasser, dem so viel Ferrozyankalium zugesetzt ist, daß die Lösung das-

[1]) Nach N. Svedelius, l. c., 1914, S. 49 u. 1915, S. 4.

[2]) Ch. J. Chamberlain, l. c., 1915, S. 189.

[3]) L. Dippel, Das Mikroskop, 2. Aufl., Bd. I, 1882, S. 769.

[4]) Nach V. Chmielewski, Über Bau u. Vermehrung der Pyrenoide bei einigen Algen (russ.), 1896.

[5]) P. A. Dangeard, Le Botaniste, 7. sér., 1902, S. 97.

[6]) Nach E. Palla, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XII, 1894, S. 153. Vgl. auch S. 400 dies. Prakt. u. Reg. IV Jodwasser-Eosin.

[7]) M. v. Derschau, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXVII, 1908, S. 99.

[8]) Fr. Noll, Abh. d. Senckenb. naturf. Ges., Bd. XV, 1887, S. 111.

selbe spezifische Gewicht wie Seewasser besitzt, zieht die Alge dann rasch durch reines Seewasser und bringt sie für $^1/_2$—2 Sek. in ein Gemisch von 2 T. Seewasser, 1 T. Süßwasser und einigen frisch zugesetzten Tropfen Eisenchlorid, so entsteht in den Membranen ein Niederschlag von Berliner Blau, der sie entsprechend färbt. Wird nun die Pflanze in Seewasser übergeführt und unter günstigen Bedingungen weiter kultiviert, so müssen, falls sie neue Membranlamellen der alten Membran anlagert, diese Lamellen als farblose Verdickungsschicht gegen die blaue Wand abstechen. Auf diesem Wege ist hier der Nachweis für eine Anlagerung, d. h. Apposition der neuen Lamellen zu liefern. Doch wird die Färbung der Membran, wohl durch Ausscheidung eines Alkali, allmählich zerstört, läßt sich aber jederzeit von neuem wieder durch Eintauchen der Alge in eine mit reiner Salzsäure angesäuerte Lösung von Ferrozyankalium hervorrufen. Auch gelingt es, von vornherein eine größere Intensität der Membranfärbung zu erreichen, wenn man das Verfahren, das zu ihrer Färbung führt, mehrmals wiederholt. — Für ähnliche Aufgaben läßt sich auch Kongorot verwerten[1]), das man der Nährstofflösung, in der die Pflanze kultiviert wird, in einem Verhältnis von etwa 0,01 $^0/_0$ zusetzt. Da die jungen, neu gebildeten Zellwandschichten besonders lebhaft den Farbstoff an sich zu ziehen pflegen, so entreißen sie ihn den älteren Wandteilen und sind im wesentlichen allein gefärbt. Die Aufspeicherung von Kongorot hindert nicht das Dickenwachstum, hemmt hingegen, ja verhindert unter Umständen vollständig das Längenwachstum. Das führt zu Formveränderungen, ja selbst Durchschnürungen des Protoplasmas und Ablagerung neuer Zellwandmassen.

Wir wollen auch noch auf einige Tinktionen von Gallertscheiden sowie Einlagerungen, die künstlich in jenen Gallertscheiden bewirkt werden können, eingehen, weil sich uns in ihnen ebenfalls wichtige Hilfsmittel der Beobachtung über Membranwachstum bieten können[2]). — Manche Spirogyra-Arten, so Spirogyra orthospira, außerdem verschiedene Arten der den Spirogyren verwandten Gattung Zygnema, sind mit derartigen Gallertscheiden versehen. Die Zygnemen erkennt man leicht an den beiden sternförmigen, jeder Zelle des Fadens zukommenden, je ein stärkeumhülltes Pyrenoid einschließenden und den Zellkern zwischen sich fassenden Chlorophyllkörpern. Die Gallertscheide überzieht als völlig homogene, relativ starke Schicht den Faden. Nicht selten schließt sie kleine, scharf begrenzte Stäbchen ein, die eingedrungene Bakterien darstellen. Um diese Scheide gut sichtbar zu machen, untersuchen wir die Objekte in einer Aufschwemmung von Tusche oder natürlicher Sepia[3]), der man, wenn noch ein Studium der Scheidenstruktur folgen soll, bestimmte Farbstoffe, wie Vesuvin, Methylviolett, Methylenblau in wässr. Lösung zufügt. Diese färben zugleich die Zellhäute des Fadens und die Gallertscheide, letztere aber langsamer und weniger intensiv. Noch schwächer wird die Gallertscheide gefärbt, wenn wir Lösungen von Zyanin, Gentianin oder Safranin anwenden würden. Kongorot endlich färbt zunächst die Zellhaut allein,. nach längerer Einwirkungsdauer auch die Gallertscheide[4]). Ebenso haben wir es in der Gewalt, mit Jodjodkaliumlösung oder mit Chlorzinkjodlösung die Zellhaut ohne die Scheide

[1]) G. KLEBS, Arb. d. bot. Inst. zu Tübingen, Bd. II, 1887; vgl. a. E. ZACHARIAS, Flora, Bd. LXXIV, 1891, S. 470. Der Entfärbung der Membranen durch das Licht wurde durch Kultur im Dunkeln vorgebeugt. Ebenda, S. 488.

[2]) Nach G. KLEBS, l. c., 1887, S. 333 ff.

[3]) Nach BR. SCHROEDER, Verh. Nat. Ver. Heidelberg, N. F., Bd. VII, 1902, S. 139.

[4]) L. KNY, Bot. Wandtafeln. X. Abt., Text zu Taf. CIII, 1906, S. 456.

zu färben. Mit verd. Lösungen, vornehmlich von Methylviolett und Methylenblau, gelingt es sogar, eine Färbung der Gallertscheide lebender Zellen hervorzurufen, ohne daß diese gleich geschädigt werden. Bei allen diesen Färbungen der Gallertscheide läßt sich, je nach der angewandten Spezies mehr oder weniger scharf, eine Zusammensetzung der Scheide aus feinen, nach außen gerichteten Stäbchen erkennen, die an den Querwänden der Zellen meist etwas zusammenneigen. Stellt man auf die Oberfläche der Gallertschicht ein, so sieht man außerdem, daß die Stäbchen zu einem deutlichen Netzwerk angeordnet sind. Allzu konzentrierte Farbstofflösungen rufen ein Zusammenziehen der Gallertscheide hervor. Dasselbe tritt bei Anwendung von Alk. abs. ein, wobei die Struktur der Scheide zugleich sichtbar wird. Legt man die in Betracht kommende Alge lebend in Glykose-Pepton, eine Lösung von 1 % Glykose und 0,5 % Pepton, so lagert sich in die Gallertscheide eine stickstoffhaltige Substanz ein; die Stäbchenstruktur tritt dann besonders deutlich hervor. Nach zweitägigem Aufenthalt in dem Glykose-Pepton hat die Scheide ein stark lichtbrechendes, weißglänzendes, dichtes Aussehen gewonnen, läßt sich mit Jodlösungen intensiv färben und nimmt Farbstoffe auf, wie Anilinblau, Nigrosin, die sie zuvor nicht färbten. Diese Eiweißeinlagerung findet auch an Fäden statt, die durch Alkohol, Eisessig, Pikrinsäure, nicht an jenen, die durch konz. Sublimatlösung getötet worden sind. — Auch durch Einlagerung verschiedener Niederschläge in die Gallertscheide, so namentlich von Tonerde-, Chromoxyd-, Eisenoxyd-Verbindungen, läßt sich die Struktur der Gallertscheide deutlich machen. Die Methode dieser Einlagerungen ist im Prinzip dieselbe, wie die in der Farbentechnik zur Erzeugung des Berliner Blau in vegetabilischem Gewebe angewandte[1]; wir haben sie auch zuvor schon bei Caulerpa verwertet. Die mit Gallertscheiden versehenen Zygnemen, die wir weiterhin allein betrachten wollen, mit denen übrigens die bescheideten Spirogyren in allen wesentlichen Punkten übereinstimmen, werden lebend, in größerer Anzahl mit einem Faden in der Mitte zusammengebunden, für 1—2 Min. in eine 0,2—0,25-proz. Lösung von milchsaurem Eisenoxydul getaucht, dann einen Moment durch frisches Wasser gezogen und hierauf in eine 0,2—0,25-proz. Lösung von Ferrizyankalium gebracht. In der Gallerte, die Eisensalz aufgenommen hat, schlägt sich in sehr geringer Menge Turnbulls Blau nieder. Aus der Lösung von Ferrizyankalium überträgt man die noch kaum merklich gefärbten Zygnemen wieder in das Eisensalz und aus diesem in Wasser und in die Ferrizyankalium-Lösung zurück und so mehrmals, bis eine tiefblaue Färbung der Gallertscheide erzielt ist. Die größtenteils ungeschädigten Zygnemen können in reinem Wasser weiter kultiviert werden. — Nach derselben Methode kann man die verschiedenartigsten, anorganischen wie organischen Verbindungen in die Gallertscheide lebender Zygnemen niederschlagen; so gelingt beispielsweise auch eine sehr instruktive, goldgelbe, homogene bis feinkörnige Einlagerung von Chromgelb bei Anwendung von 0,25 % essigs. Blei und 0,25 % chroms. Kali und abwechselndem, 3—5maligem Eintauchen der Fäden in diese beiden Lösungen. Die am Leben gebliebenen Zygnemen stoßen alsbald die Turnbulls Blau enthaltende und in Quellung eintretende Scheide in faltigen Massen ab. Ebenso wird nach Einlagerung von Chromgelb die Gallertscheide fast unmittelbar, meist in Form von blasigen, bald schlammartig verschmelzenden Vorstülpungen abgeworfen. Eine solche

[1]) Vgl. G. Klebs, l. c., 1887, S. 339.

Abstoßung erfolgt aber nicht bei allen Niederschlägen, das Verhalten ist vielmehr je nach der Art der Einlagerung verschieden[1]).

Da das Kongorot die Gallertscheide zunächst gar nicht färbt, so läßt es sich auch zu sehr schönen Doppelfärbungen benutzen. Zygnemen, deren Zellhaut durch Kultur in Kongorot gefärbt wurde, erhalten hierauf eine Einlagerung von Turnbulls Blau in die Gallertscheide, worauf der grüne Zellinhalt sich von der roten Zellhaut und diese von der tiefblauen Scheide in überraschender Weise abheben. — Von hohem Interesse sind auch Kulturen von Zygnemen in 0,1-proz. Eisenweinstein. Dauert die Kultur längere Zeit fort, so beobachtet man an der lebenden Zelle schwarze, körnige Massen, die an der Innenwand der Zelle sitzen und auch, wenn die Zelle durch wasserentziehende Mittel plasmolysiert wird, dort haften bleiben. Fäden mit derartigen festen, schwarzen Marken an der Innenseite der Zellwand sind sonst durchaus gesund und zeigen Wachstum. Es ist nun festzustellen, daß die neu entstehenden Zellhautlamellen sich über die schwarzen Körner lagern, somit das Wachstum der Zellhaut hier durch Apposition erfolgt. Während des Längenwachstums werden die äußeren Zellwandschichten allmählich gedehnt und schließlich gesprengt. — Die Gallertscheide geht aus den äußeren Schichten der Zellhaut nicht hervor, wird vielmehr vom Protoplasma her durch die Zellhaut nach außen während des Längenwachstums fortdauernd ausgeschieden.

Ein anderer sehr interessanter Versuch läßt sich ebenfalls mit einer Zygnema anstellen[2]). Legt man einen Zygnema-Faden in eine 10-proz. Glykoselösung, so wird er plasmolysiert, aber nicht getötet. Die stark kontrahierten Protoplasten sind im Licht, nicht aber im Dunkeln befähigt, sich mit stark geschichteten Zellhäuten zu umgeben und lebhaft zu wachsen. Dabei nehmen sie abnorme Gestalten an, teilen sich aber in gewohnter Weise. Bei der Plasmolyse langgestreckter Zygnema-Zellen zerreißt der Protoplast in zwei Hälften, von denen die eine den einzigen Zellkern erhält, die andere kernlos ist. Nur die kernhaltigen Teilstücke der Zellen bilden Membranen, wachsen in die Länge, bis die ursprüngliche Zellgröße wieder erreicht ist, die kernlosen Hälften hingegen sind nicht fähig, Zellhaut zu bilden, auch nicht in die Länge zu wachsen, wohl aber erhalten sie sich am Leben, nehmen gleichmäßig an Volumen zu und füllen sich mit Stärke. Diese Erscheinungen treten aber nur in Rohr-, Trauben-, Milchzucker und Mannit ein.

Fast bei einer jeden Untersuchung von Wasserpflanzen begegnet man den zu den grünen Wasseralgen gehörenden, mit den Spirogyren verwandten Desmidiaceen[3]). Besonders verbreitet sind die frei lebenden, z. T. gestreckt-zylindrischen, geraden oder gekrümmten Formen, die zu Closterium und Verwandten gezählt werden und die meist scheibenförmigen, durch mehr oder weniger tiefe Einschnürung in zwei symmetrische Hälften geteilten Euastren. Heben wir Fadenalgen, etwa Cladophoren, aus einem Bassin, spülen sie in einem Gefäß mit Wasser aus und untersuchen nach einiger Zeit den Bodensatz, so sind wir ziemlich sicher, verschiedene Desmidiaceen in letzterem zu finden. Die schönsten Formen der Desmidiaceen sind freilich wählerischer in ihrem Aufenthaltsort; man begegnet

---

[1]) Dies und das folgende nach G. Klebs, l. c., 1887, S. 345 ff.

[2]) G. Klebs, Tagebl. d. Versamml. deutsch. Naturf. u. Ärzte in Berlin, 1886, S. 194.

[3]) A. de Bary, Unters. über d. Fam. d. Konjugaten, 1858, S. 38; A. Fischer, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XIV, 1884, S. 133.

ihnen in Teichen und Bächen, in Waldtümpeln, vornehmlich aber in Torfstichen und Mooren und dann oft in großen Mengen. Wir nehmen das sehr verbreitete, mondsichelförmig gekrümmte Closterium moniliferum Ehrb. (Fig. 179) in Untersuchung. Im Innern der von einer glatten Wandung umgebenen Zelle fallen zunächst die beiden Chlorophyllkörper auf. Frei von letzteren und nur vom farblosen Zellplasma eingenommen sind die beiden Enden der Zelle und eine schmale, äquatoriale Zone. In letzterer liegt der mit großem Kernkörperchen versehene Kern. In den beiden farblosen Enden der Zelle sieht man je ein rundes, mit wässr. Zellsaft erfülltes „Endbläschen", in dem dunkle Körnchen, kleine in Schwefelsäure unlösliche Gipskristalle[1]), sich in zitternder Bewegung befinden. Werden diese Körnchen durch Zerdrücken der Zelle befreit, so lassen sie sich als äußerst kleine Prismen erkennen. Die kleinen Endbläschen stellen besonders abgegrenzte Teile des Saftraums der Closterium-Zelle vor. Die Hauptmasse des Zellsafts ist um die beiden Chromatophoren und den zentralen Kern verteilt.

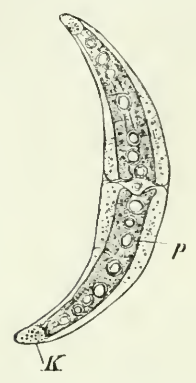


Fig. 179. Closterium moniliferum. *p* Pyrenoide, *K* kristallführende Endbläschen. Vergr. 240.

Längs der Zellwand sieht man in der ganzen Zelle einzelne Körnchen in Bewegung. Das rasche Gleiten in gerader Richtung längs der Wand hat man als „Glitschbewegung" besonders unterschieden, es stellt aber nichts anderes als eine sehr rasche Protoplasmaströmung dar. Hin und wieder bekommt man ein Closterium-Individuum, das gegen einen anderen Gegenstand gestützt ist, in aufrechter Stellung zu sehen, oder man bringt ein solches Individuum durch Verschieben des Deckglases in die erwünschte Lage. Dann stellt man fest, daß die Zelle einen kreisrunden Querschnitt hat und der gerade im Bild uns entgegentretende Chromatophor die Form eines etwas gekrümmten, mit meist 10 Längsrippen ausgestatteten Kegels besitzt, der, diesem Bau entsprechend, in Querschnittansicht als eine mehr oder weniger tief ausgezahnte Scheibe sich präsentiert[2]). In ihrem Zentrum zeigt sich eins der Pyrenoide, die bei Closterium moniliferum in der Längsachse des Chromatophors liegen (Fig. 179 bei *p*) und uns daher in Seitenansicht zu einer einzigen Reihe angeordnet entgegentreten. Auch in der Seitenansicht erkennen wir jetzt die Längsrippen des Chromatophors wieder. Die beiden Chromatophoren stoßen im Äquator der Zelle fast zusammen, dort nur den Raum für den Kern freilassend. Außer den Stärkekörnern, die als Hüllen die Pyrenoide umgeben, sind, wie Jodzusatz lehrt, auch noch andere kleine Stärkekörner der Oberfläche des Chromatophors eingelagert. Die Räume zwischen den Chlorophyllkörper-Rippen nimmt mehr oder weniger stark von Vakuolen durchsetztes, farbloses Zytoplasma ein, das in die zarte, farblose Plasmawandschicht übergeht.

Die Zellwand von Closterium moniliferum besteht, wie die der Desmidiaceen allgemein, aus zwei im Äquator zusammentreffenden Schalenhälften, die sich durch Behandlung mit Alkalien, durch Fäulnis u. ä. voneinander trennen lassen. Sie ist glatt; mit Jod und Schwefelsäure nimmt

[1]) A. Fischer, l. c., 1884, S. 137.
[2]) Vgl. B. F. Lutman, Bot. Gaz., Bd. IL, 1910, S. 245.

sie einen deutlich violetten Ton an. Sie ist wenig widerstandsfähig gegen konz. Schwefelsäure, in der sie alsbald gelöst wird, ohne zuvor in ihre Hälften zu zerfallen.

Andere, in demselben Präparat etwa vertretene, derbere Closterium-Arten können infolge Einlagerung von Eisenhydrat eine gelb bis rotbraun gefärbte Zellhaut besitzen[1]), die vielfach in Flächenansicht eine deutliche Längsstreifung erkennen läßt. Diese wird durch parallel verlaufende, platte Riefen bedingt, die von schmalen Furchen getrennt sind, in deren Tiefe, nach Färbung mit verd. wässr. Fuchsin, bzw. Methylviolett und Nachspülen mit essigsaurem Kali besonders deutlich erkennbar, Poren-Organe zu beobachten sind. Auch an den Spitzen der Zellen zeigen sich Poren, und zwar besonders große. Nähere Untersuchung lehrt, daß die Wände, wie auch sonst die der Desmidiaceen, aus zwei Schichten aufgebaut sind, von denen die innere anscheinend aus reiner Zellulose besteht, während die äußere mit allerlei Einlagerungen versehen ist. Durch Jod und Schwefelsäure wird die Innenschicht rasch rein und tiefblau gefärbt, während die Außenschicht zunächst gelb oder braun bleibt, um allmählich einen schmutzig graublauen und nach 24-stünd. Einwirkung des Reagens einen blauen Ton anzunehmen oder, ohne die Farbe geändert zu haben, sich faltig abzuheben. Nach Chlorzinkjod-Behandlung wird stets nur die Innenschicht rötlich-violett gefärbt, während die Außenschicht ihre ursprüngliche bräunliche Farbe behält[2]). Ein wenig Schwefelwasserstoffwasser ruft eine Schwarzfärbung der äußeren Zellhaut hervor. Salzsäure entfernt die Eisenverbindung, und die zarte, farblose Zellhaut bleibt dann übrig.

Die Closterien vermehren sich durch Zweiteilung, wobei die Scheidewände an einer in der Äquatorialebene bzw. dieser benachbart sich zeigenden schwachen Einschnürungsstelle (Ringfurche) angelegt werden[3]). Durch „Ergänzungswachstum“ muß hierauf zu jeder der beiden Schwesterzellen die fehlende Hälfte hinzugebildet werden. So kommt es denn, daß wir hin und wieder in unseren Präparaten Individuen begegnen, bei denen die eine Hälfte durch geringere Länge und etwas verschiedene Form von der anderen abweicht.

Den allermeisten Desmidiaceen kommt eine deutliche Eigenbewegung zu[4]). Diese Bewegung besteht: in einem Vorwärtsgleiten auf der Fläche, wobei das eine Ende der Zelle den Boden berührt, während das andere mehr oder minder davon absteht und während der Bewegung hin und her pendelt; in einem Sicherheben senkrecht zum Substrat und Aufsteigen über dieses, wobei das freie Ende weiter pendelnde Bewegungen ausführt; in einem Sicherheben über das Substrat, Kreisen, dann Abwärtssenken des freien Endes und Erheben mit dem vorhin festsitzenden Ende und so

[1]) Vgl. hierzu G. KLEBS, Arb. d. bot. Inst. in Tübingen, Bd. II, 1887, S. 385.

[2]) Nach J. LÜTKEMÜLLER, COHNS Beitr. z. Biologie der Pflanzen, Bd. VIII, 1902, S. 370. Vgl. auch den Abschnitt „Desmidiaceae“ in FR. OLTMANNS, Morphologie und Biologie der Algen, 2. Aufl., Bd. I, 1922, S. 106 ff., und die Angaben von C. VAN WISSELINGH, Zeitschr. f. Bot., IV. Jahrg., 1912, S. 337, der feststellte, daß die Zellwand bei Closterium Ehrenbergii und Cl. acerosum aus verschiedenen Schichten besteht, deren Alter von innen nach außen zunimmt, daß die älteren äußeren Schichten nur zum Teil die darunterliegenden jüngeren bedecken, und an der Peripherie sich ein dünnes, das Ganze lückenlos überziehendes Häutchen befindet, das besonders widerstandsfähig gegen Schwefelsäure ist und sich mit Jod gelb färbt.

[3]) Das Nähere über die komplizierten Teilungsvorgänge, bei J. LÜTKEMÜLLER, l. c., 1902, S. 372; auch bei C. VAN WISSELINGH, l. c., 1912, S. 359.

[4]) Vgl. G. KLEBS, Biol. Zentralbl., Bd. V, 1885, S. 354.

abwechselnd fort, eine Bewegung, die charakteristisch für das von uns untersuchte Closterium moniliferum ist; endlich bei sehr stark gekrümmten Closterium-Formen in einem Sicherheben in Querstellung, so daß beide Enden den Boden berühren, dann seitlichen Bewegungen in dieser Lage, dann Aufwärtsheben, Kreisen und wieder Abwärtssenken des einen Endes zur früheren Querstellung oder zur ausgestreckten Bodenlage. Closterium moniliferum zeigt unter Umständen auch Querstellung und läßt ebenso ein Gleiten auf der Fläche beobachten. Die Bewegungserscheinungen hängen mit einer Gallertbildung zusammen, wie dies besonders bei der gleitenden Bewegung mit dem Sicherheben über das Substrat festzustellen ist. Während des Fortgleitens auf der Fläche wird von dem ihr anliegenden Ende der Zelle ein Gallertfaden ausgesondert, der so den durchlaufenen Weg direkt bezeichnet. Ebenso ist es ein solcher Gallertfaden, der das Erheben über das Substrat ermöglicht. Man kann diese Gallertfäden direkt sichtbar machen, wenn man die Closterien in einer Aufschwemmung von Tusche bzw. Sepia untersucht (s. S. 413) oder sehr verd. Methylviolett-, Methylenblau bzw. Vesuvin-Lösung dem Präparat zusetzt. Auch Safranin, Fuchsin, Gentianaviolett lassen die Struktur der Membran und der Gallerte deutlich hervortreten[1]). In sehr verdünnten Lösungen mancher dieser Farbstoffe, besonders des Methylvioletts, bleiben die Closterien eine Zeitlang am Leben. Die Gallerte der Desmidiaceen stimmt in ihrem Bau mit jener der Spirogyren und Zygnemen nahe überein. Für deren Studium hat sich Behandlung mit Diastaselösung, bei der die Gallerte stark aufquillt und darauffolgende Färbung mit Neutralrot oder Methylenblau als sehr wertvoll erwiesen[2]). Die Poren, die wir an den Enden der eisenhaltigen Closterien beobachtet haben, dürften die Gallertausscheidung vermitteln[3]). Ein freies Schwimmen ist bisher für keine Desmidiacee nachgewiesen worden.

In ganz bestimmter Weise werden die Eigenbewegungen von Closterium moniliferum durch das Licht beeinflußt[4]). Wir wollen versuchen, das direkt festzustellen, und beschaffen uns zu diesem Zweck kleine, quadratische Glaskammern von etwas geringerer Größe als der Objekttisch unseres Mikroskops, die etwa 1 cm hohe Seitenwände besitzen. Doch können in Ermangelung solcher Glaskammern allenfalls beliebige Glasgefäße mit flachem Boden aushelfen, soweit sie Platz auf dem Objekttisch finden. Wir gießen Closterium-haltiges Wasser in die Glaskammern bzw. Glasgefäße, stellen den Spiegel ab, so daß kein Licht von unten her die Objekte trifft, und versuchen es nunmehr, die Closterien bei schwacher Vergrößerung in diffusem Tageslicht zu beobachten. Schon nach kurzer Zeit, falls die Closterien in völlig gesundem, kräftigem Entwicklungszustand sich befinden, ist die Längsachse der meisten Individuen in der Richtung der vom Fenster her einfallenden Lichtstrahlen orientiert. Mit dem einen, von der Lichtquelle abgekehrten Ende sitzen die Closterien dem Boden des Gefäßes an, das andere schwebt frei pendelnd in der Richtung zur Lichtquelle. Wir drehen jetzt das Gefäß, oder besser, um jede Erschütterung des Wassers zu vermeiden, wir blenden vorn das Licht mit einem schwarzen Schirm ab und beleuchten das Präparat mittels eines Spiegels von der Seite. Alsbald haben sich die Closterien um ihren Stützpunkt gedreht und vor-

[1]) P. Hauptfleisch, Dissert., Greifswald, 1888.
[2]) Vgl. A. Andreesen, Flora, Bd. IC, 1909, S. 408.
[3]) G. Klebs, Arb. d. bot. Inst. in Tübingen, Bd. II, 1887, S. 383 ff.
[4]) Nach E. Stahl, Bot. Ztg., XXXVIII. Jahrg., 1880. Sp. 393.

wiegend in der nunmehrigen Richtung der einfallenden Lichtstrahlen orientiert. Die Stellung der Closterien wird somit durch das Licht beeinflußt, sie sind „phototaktisch". Bei fortgesetzter Beobachtung einzelner Exemplare stellt man vielfach fest, daß nach einiger Zeit ihr freies Ende sich abwärts neigt und den Boden des Gefäßes erreicht, bald darauf aber das vorher festsitzende Ende sich hebt und, in der Richtung zur Lichtquelle einen annähernd senkrechten Bogen beschreibend, sich nunmehr der Lichtquelle zuwendet. Nach einer bestimmten Zeitdauer, die 5—35 Min. betragen kann, wird eine neue Umdrehung ausgeführt und so rücken die einzelnen Closterien, sich fort und fort überschlagend, langsam der Lichtquelle näher. Läßt man intensiveres Licht auf die Closterien einwirken, so beginnen sie sich alsbald um ihren Stützpunkt zu drehen und stellen sich so, daß ihre Längsachse senkrecht vom Licht getroffen wird. Diese Querstellung bleibt auch im direkten Sonnenlicht beibehalten, doch bemerkt man jetzt, daß einzelne Individuen langsam, auf das eine Ende gestützt, von der Lichtquelle fortgleiten. Hierbei kehren sie ihr die konvexe Seite, gewissermaßen den Rücken zu. Somit sind die Closterien nicht nur phototaktisch, d. h. ihre Eigenbewegungen werden nicht nur von dem Lichteinfall orientiert, sie sind auch „photometrisch", d. h. auf ein Licht gewisser Intensität gestimmt[1]) (vgl. auch S. 486).

In den Präparaten finden sich meist noch größere und kleinere Desmidiaceen von oft sehr zierlicher Gestalt. — Eine sehr verbreitete Form ist das Cosmarium Botrytis Menegh.; sie zeigt in Frontansicht annähernd kreisförmigen, in Seitenansicht elliptischen Umriß. Nur ein schmaler Isthmus verbindet beide Zellhälften; in diesem liegt der Zellkern. In jeder Zellhälfte befinden sich zwei mit je einem Pyrenoid versehene Chromatophoren. Das Pyrenoid ist von einer Stärkehülle umgeben; außerdem sind einzelne kleine Stärkekörner in den Chromatophoren zerstreut. Die Chromatophoren stoßen mit ihren Rändern zusammen und lassen einen annähernd bikonvexen Zwischenraum zwischen sich frei. Jeder hat etwa dieselbe Gestalt, wie sie ein der Länge nach halbierter Chromatophor von Closterium zeigen würde. In der Scheitelansicht einer Zellhälfte sieht man, daß vier Leisten einem gemeinsamen Verbindungsstück entspringen, in dessen Mitte das Pyrenoid liegt. Die Leisten breiten sich an der Zellwand aus. In natürlicher Lage der Zellen sieht man diese Leisten von der Kante; sie zeichnen sich als intensiv grüne Streifen. Der Zellsaft, der den Raum zwischen den Leisten und der Zellwand erfüllt, führt oft zahlreiche Körnchen in tanzender Bewegung, unter diesen auch kleine Gipskristalle, die zurückbleiben, wenn man die Zelle mit Schwefelsäure behandelt. Die ganze Zellwand erscheint von flachen Höckern besetzt, an denen sich Gallertmasse besonders ansammelt. In der tiefsten Stelle der Einschneidung ist die Wandung etwas dicker und stärker lichtbrechend. Bei Zusatz von konz. Schwefelsäure trennen sich beide Zellhälften voneinander, der Inhalt tritt an der Trennungsstelle hervor; die Zellhäute werden langsam aufgelöst. — Die Zellteilung erfolgt im Isthmus, der sich zuvor etwas verlängert. Aus der vorgewölbten Isthmushälfte muß eine neue Zellhälfte ergänzt werden, daher findet man nicht eben selten Individuen mit einer kleinen, in Entwicklung begriffenen, noch dünnwandigen Hälfte, der auch noch die Höcker fehlen. — Relativ seltener,

[1]) Über den Einfluß anderer richtunggebender Reize, bes. die der Schwerkraft vgl. G. Klebs, Biol. Zentralbl., Bd. V, 1885, S. 360, R. Aderhold, Jen. Zeitschr. f. Naturw., Bd. XXII, 1888, S. 310, und K. Gerhardt, Dissert., Jena 1913.

als diesen freilebigen, begegnet man den zu Fäden vereinigten Desmidieae filiformes; sie sind meist unschwer als Desmidiaceen zu erkennen und haben oft Gallertscheiden aufzuweisen. Ferner finden sich in kalkhaltigen Gewässern zu gerundeten Massen in verkalkten Krusten oder Polstern verbundene Cosmarium-ähnliche Formen [1]).

Zarte Algen, wie Desmidiaceen und andere, behalten die Struktur des Plasmas sehr gut, wenn man zu ihnen vom Deckelglasrand einen Tropfen 1-proz. Osmiumsäure hinzutreten läßt und nach 10—20 Min. essigsaures Kali zusetzt, in dem das Präparat sich auch aufbewahren läßt [2]). Man kann auch so vorgehen, daß man die Objekte mit der Pipette auf einen mit Eiweiß bestrichenen Objektträger bringt und dort mit dem vom RATHschen Gemisch (s. S. 66) fixiert oder vielfach besser noch mit 50-proz. Alkohol, der durch das schnellere Gerinnen des Eiweißes ein besonders gutes Anhaften der Objekte auf der Unterlage gewährleistet. Nach Überführen in Alkohole höherer Konzentrationen und mehrstündigem Aufbewahren in Alk. abs. kann mit Eisen-Hämatoxylin gefärbt werden. Bei der Differenzierung geben Plasma und Chromatophoren die Farbe eher ab als Pyrenoide und Kern [3]). Junge Desmidiaceen lassen sich gut mit 1-proz. Chromsäure fixieren und nach erfolgtem Auswaschen auf dem Objektträger mit verd. Hämalaun färben. Es wird dann ein Tropfen verd. Glyzerin aufgetragen, das sich in der Luft durch Verdunsten konzentriert. Nunmehr ist es möglich, Phenol zuzusetzen, das die Objekte durchsichtig macht, ohne deren Schrumpfung zu veranlassen. Da das Phenol verdunstet, wird ihm vorsichtig und allmählich Nelkenöl hinzugefügt. Oder man setzt statt Nelkenöl Kreosot hinzu und schließlich Kanadabalsam [4]).

Kleine Algen oder andere entsprechend kleine Organismen lassen sich eine Zeitlang unter dauernder Kontrolle auf dem Objekttisch des Mikroskops kultivieren. Rasch und in einfachster Weise gelangt man zum Ziel, indem man das Deckglas, unter dem die Kultur vorgenommen werden soll, auf Wachsfüßchen am Objektträger befestigt. Besser ist es [5]), zwei aus 0,14 mm dicken Deckgläsern geschnittene Leisten auf den Objektträger parallel zu dessen Längsachse in einer gegenseitigen Entfernung von etwa 8 mm mit Kanadabalsam aufzukitten. Zwischen diese beiden Leisten wird dann das Objekt in einen Wassertropfen gebracht und das Deckglas aufgelegt. Das Deckglas befestigt man an den zu den Leisten parallelen Rändern mit einem kleinen Tröpfchen rasch fest werdenden Terpentinharzes. In dem einen wie in dem anderen Fall wird dann von beiden Seiten her ein kurzer Leinwandstreifen unter das Deckglas geschoben. Neben dem Mikroskop stellt man ein mit Wasser gefülltes Becherglas auf, dessen oberer Rand den Objekttisch um etwa 5 cm überragt. Ein Heber aus einem passend gebogenen, an einem ins Becherglas tauchenden Ende fein ausgezogenen Glasrohr sorgt für die Wasserzufuhr. Diese wird durch einen Leinwandstreifen [6]) geregelt, den man in die freie Öffnung

[1]) Vgl. G. SENN, Zeitschr. f. Naturw., Bd. LXXII, S. 221; Bot. Ztg., LVII. Jahrg., 1899, I. Abt., S. 39.

[2]) W. MIGULA, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. III, 1886, S. 47.

[3]) Nach H. KAUFFMANN, Zeitschr. f. Bot., Bd. VI, 1914, S. 724.

[4]) H. KLEBAHN, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXII, 1891, S. 419; vgl. a. Reg. IV Desmidiaceen.

[5]) Nach J. AF KLERCKER, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. VI, 1889, S. 146, und A. SCHERFFEL, Ebenda, Bd. X, 1893, S. 441.

[6]) P. MAYER, Einführung in die Mikroskopie, Berlin 1914, S. 157, verwendet zum gleichen Zweck Baumwollfäden.

des Hebers einzwängt, so daß das Wasser nur tropfenweise abfließt. Das andere Ende des Leinwandstreifens wird dann auf den unter das Deckglas reichenden Leinwandstreifen gelegt. Ein anderer Leinwandstreifen, den man auf der entgegengesetzten Seite des Objektträgers anbringt, sorgt für den Abfluß. — Bei länger andauernden Kulturen verwende man Nährlösungen oder auch feste Nährböden (vgl. Reg. IV Desmidiaceen). — Um die Objekte, die in der bezeichneten Weise unter dem Mikroskop in fließendem Wasser kultiviert werden, in ihrer Lage zu erhalten[1]) und vor dem Wegschwemmen zu schützen, empfiehlt es sich, sie zwischen etwas Glaswolle einzulegen. Noch besser werden sie durch Myzel von Schimmelpilzen festgehalten, das man durch Hitze zuvor getötet und sterilisiert hat, und das nunmehr eine klebrige Masse bildet, in der die kleinen Objekte unbeweglich liegen bleiben.

Wünscht man sehr kleine Objekte, die man in hängenden Tropfen beobachtete, und die sich nicht übertragen lassen, in Dauerpräparate zu verwandeln, so gilt es, ein ganz bestimmtes Verfahren einzuschlagen[2]). Man fixiert sie, indem man das Deckglas mit dem Tropfen über ein Gefäß mit 2-proz. Osmiumsäure legt, oder indem man einen Tropfen 1-proz. Osmiumsäure hinzufügt, oder mit Joddämpfen, die man durch Erwärmen von Jodkristallen in einem Reagenzglas erhält. Die Fixierung erfolgt in allen diesen Fällen augenblicklich. Nach Anwendung von Joddämpfen ist das Deckglas einige Min. bis auf 40° zu erwärmen, um das Jod wieder zu entfernen. Dann legt man das Deckglas mit dem Tropfen nach oben auf eine ca. 3 mm hohe Scheibe von Holundermark, die ihrerseits auf einem Objektträger ruht. Jetzt wird ein Tropfen 20-proz. Alkohol dem Tropfen auf dem Deckglas hinzugefügt und der Objektträger, der jenes Deckglas trägt, auf eine entsprechende Unterlage (Glaswürfel oder dergl.) in eine flache, nicht zu große Kristallisierschale gelegt. In diese gießt man Alk. abs., der aber den Objektträger nicht erreichen darf. Über Nacht ist der Tropfen auf dem Deckglas durch Alk. abs. ersetzt. Nun nimmt man den Objektträger samt Deckglas heraus und läßt einen Tropfen recht dünnflüssiger Zelloidlösung auf letzteres fallen. Durch Hin- und Herneigen des Objektträgers breitet man die Zelloidinlösung gleichmäßig über dem Deckglas aus. Sobald sie nicht mehr fließt, legt man das Deckglas mit der Zelloidinseite nach oben in 80-proz. Alkohol. Schon nach 1 Min. ist das Zelloidin so erstarrt, daß man die Färbung des Objekts vornehmen kann. Man versenkt das Deckglas schräg in die Farbstofflösungen, damit die Zelloidinschicht sich nicht vom Deckglas ablöse. Zur Färbung lassen sich alle Karmin- und Hämatoxylinlösungen verwenden: Eosin, Methylgrün, unter Umständen auch Fuchsin, während einige Anilinfarben, wie Gentianaviolett, das Zelloidin mitfärben, daher nicht zu brauchen sind. Beim Übertragen in Balsam darf Alk. abs. nicht zur Entwässerung benutzt werden, da er das Zelloidin löst; man nimmt 80—85-proz. Alkohol, dann gleiche Mengen 90-proz. Alkohol und Kreosot, dann Kreosot, dann Xylol, schließlich Balsam, oder auch Balsam gleich nach dem Kreosot.

Um so kleine Objekte, wie etwa Spirogyren, entsprechend orientiert einzubetten und demgemäß in genau orientierte Schnitte mit dem Mikrotom zerlegen zu können, gilt es, bestimmte Kunstgriffe anzuwenden.

---

[1]) J. af Klercker, Öfers. af K. Vetensk. Akad. Förhandl., 1892, Nr. 9, S. 463.
[2]) Nach E. Overton, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. VII, 1890. S. 14. Siehe auch Reg. IV Kleine Objekte.

Man kann ein Büschel noch nicht fixierter Fäden mit der Pinzette erfassen, sie auf ein mit dem Fixierungsmittel durchtränktes Stück Fließpapier legen, dieses entsprechend falten, hierauf das ganze Paket weiter behandeln und schließlich richtig orientiert schneiden[1]. — Am besten bewährte sich die folgende Methode[2]. Es wird ein Objektträger mit etwas Glyzerin allseitig eingerieben, dann einmal in Kollodium oder besser noch in Photoxylin eingetaucht und in senkrechter Stellung bis zum Trockenwerden gehalten. Ein entsprechend großes Stück des so gewonnenen Häutchens legt man auf ein flaches Korkstück, trägt die zuvor fixierten Spirogyrafäden auf, ordnet sie, soweit tunlich, mit einer Nadel parallel zueinander und faltet nun das Kollodium- bzw. Photoxylinhäutchen der Länge nach zusammen, so daß die Fäden in die Rinne zu liegen kommen. Gegen diese werden die Fäden mit der Nadel noch angedrückt und das zusammengeschlagene Häutchen nunmehr dicht an den Fäden, an der von der Rinne abgekehrten Seite, mit Nadeln am Kork befestigt. So kommt das Ganze, nachdem es die verschiedenen Alkohole passierte, nach gewohnter Methode in Paraffin: erst wenn dieses die endgültige Konzentration erreichte, wird das Häutchen mit den Fäden vom Kork losgetrennt und sinkt in dem Paraffin zu Boden. Das geschieht in einem kleineren Gefäß mit flachem Boden, das mit Glyzerin ausgerieben wurde, und in dem man das Paraffin hierauf erstarren läßt. Man richtet dann den Paraffinblock entsprechend beim Schneiden und kann somit sowohl Längs- als auch Querschnitte durch die Fäden erhalten.

Handelt es sich um verzweigte Algenfäden, von denen man Längsschnitte zu erhalten wünscht, so stellt man wiederum auf einem mit Glyzerin eingeriebenen Objektträger ein Kollodium- oder Photoxylinhäutchen her, legt diesen Objektträger auf eine entsprechend erwärmte Metallplatte, gießt etwas von dem Paraffin auf, mit dem die Algen zuvor schon durchtränkt wurden, und das die endgültige Konzentration bereits besitzt, überträgt die Alge in diese Paraffinschicht, ordnet unter entsprechend starker Lupenvergrößerung die Äste, zupft auch wohl einzelne ab, um sie in die richtige Lage zu bringen und läßt erkalten. Ist dies geschehen, so gießt man von dem nämlichen Paraffin noch etwas auf den Objektträger; doch darf dieses Paraffin nur noch halbflüssig, also nahe dem Erstarren sein. Dann hebt man das ganze Paraffinplättchen von dem Objektträger ab und klebt es mit der Paraffinseite einem Paraffinblock auf, den man an seiner Oberfläche mit einer heißen Nadel verflüssigte. Das Kollodium, bzw. Photoxylinhäutchen wird nunmehr abgezogen. — Unter Umständen empfiehlt es sich, dieses Verfahren dahin abzuändern, daß man über die noch flüssige Paraffinschicht, in der man die Alge auf dem Objektträger ordnete, einen Teil des Kollodium- oder Photoxylinhäutchen zurückschlägt, so daß es diese auch von oben deckt, und dann einen zweiten erwärmten Objektträger auflegt. Dieser wird, soweit nötig, gegen den ersten gedrückt, und beide nun in kaltes Wasser getaucht, in dem die Paraffinschicht zum Erstarren kommt. Die dünne, die Alge einschließende Platte wird nunmehr vermittels Kollodium oder Photoxylin auf einen entsprechend geformten Paraffinblock geklebt und dann mit dem Mikrotom geschnitten. In diesem Fall hat man den Nachteil, auch durch die Kollodium- oder Photoxylinschicht schneiden zu müssen. — Sowohl bei der erstgenannten wie bei der zuletzt

[1]) Fr. Oltmanns, Flora, Bd. LXXX, 1895, S. 389.

[2]) Von J. Osterhout im Bonner botan. Univ.-Institut in Anwendung gebracht.

geschilderten Art der Einbettung kann es Vorteil bringen, die fixierten Algen in Alkohol zu entwässern, dem etwas Gentianaviolett zugesetzt ist; die Algen sind dann im Paraffinbad besser zu sehen.

Um sehr kleine Objekte, Planktonorganismen, wie einzellige Algen, ferner Schwärmsporen u. dergl., oder auch Sporen und Pollenkörner zum Schneiden einzubetten, bewährte sich noch ein anderes Verfahren[1]). Eine in ihrem unteren Teil mit etwas Glyzerin eingeriebene Glasröhre wird in Kollodium oder Photoxylin eingetaucht. Nach dem Erstarren schiebt man den entstandenen Sack etwas von der Röhre hinunter, schneidet sein Ende ab, versieht gleichzeitig das obere Ende des Glasrohrs mit einem kleinen Gummiball, taucht das untere Ende wieder in Kollodium oder Photoxylin ein, drückt auf den Gummiball und hält ihn zusammengedrückt fest, bis die an dem Glasrohr hängende Kollodium- bzw. Photoxylinblase erstarrt ist. Man verfügt jetzt über ein Glasrohr, das an seinem unteren Ende einen Kollodium- oder Photoxylinsack von Gestalt eines Kolbens trägt. Das Rohr wird nun mit dem Wasser gefüllt, das die zu fixierenden Objekte führt. Haben sich diese in dem unteren Kolben angesammelt, so drückt man dessen Hals mit einer Pinzette zusammen und läßt das Wasser aus dem Rohr abfließen. Dann füllt man das Rohr mit der Fixierungsflüssigkeit, läßt diese nach entsprechender Zeit wieder in derselben Weise abfließen, um sie durch andere aufeinanderfolgende Flüssigkeiten zu ersetzen, mit denen die Objekte ausgewaschen werden. Dann drückt man die Blase mit der Pinzette wieder zu, schneidet sie über dieser Stelle vom Glasrohr ab, streicht mit Kollodium oder Photoxylin zu und vollzieht nun die Entwässerung der Objekte durch die verschiedenen Alkohole in der so abgeschlossenen Blase. Es empfiehlt sich, letztere mit etwas Gentianaviolett zu färben, worauf sie in gewohnter Weise samt den in ihrem Innern befindlichen Objekten in Paraffin eingebettet wird. — Nach einem anderen, sehr einfachen Verfahren, das sich bei der Einbettung von Closterium und sonstigen kleinen Organismen bewährte, bringt man das Material mit Wasser in ein dünnwandiges Gläschen mit flachem Boden, zieht, nachdem die Objekte herabgesunken sind, mit einer Pipette o. ä. das überstehende Wasser ab, setzt das Fixierungsmittel zu, das man weiterhin in gleicher Weise entfernt und ebenso durch Wasser, Alkohole, Paraffin usw. ersetzt. Nachdem die Objekte 12 Std. in Paraffin von 52° Schmp. geweilt haben, bringt man das Gläschen in eiskaltes Wasser, zertrümmert es nach Erstarren des Paraffins, entfernt vorsichtig die noch anhaftenden Glasteilchen und kann nun das in kleine Blöckchen zerteilte Material mit dem Mikrotom schneiden[2]).

Süßwasseralgen, die man auf Exkursionen sammelt, um sie später zu bestimmen, legt man am besten sofort in Holzessig oder Holzessiggemische (z. B. Formol, Methylalkohol und Holzessig zu gleichen Teilen[3])) ein. Sie konservieren sich sehr gut darin, werden ohne alle Schrumpfungen fixiert und können somit auch brauchbares Material für spätere Untersuchungen abgeben. Ebenso wird man bei zarten Pilzen, die ohne vorausgegangene Fixierung und Färbung rasch untersucht werden sollen, mit

[1]) Ebenfalls von J. Osterhout im Bonner botan. Univ.-Institut angewandt.

[2]) Nach J. B. Overton in B. F. Lutman, Bot. Gaz., Bd. IL, 1910, S. 244. Auch Glasröhrchen, deren unteres Ende mit einem feinporösen Stoff verschlossen sind (vgl. u. a. S. 231 u. Abschn. XXII bei Fixierung von Fucus-Eiern) können hierbei gute Dienste leisten. S. a. Reg. IV Planktonorganismen.

[3]) F. Pfeiffer v. Wellheim, l. c., 1898. S. a. dies. Prakt., S. 412.

Vorteil diese Untersuchung in Holzessig vornehmen. Auch 90-proz. Alkohol, dem man vorteilhafterweise etwas Glyzerin zusetzt, ferner konz. Lösungen von Pikrinsäure erwiesen sich als gute Konservierungsmittel für Algen, die zu mikroskopischen Untersuchungen dienen sollten[1]). — Als Konservierungsflüssigkeit für Süßwasseralgen hat sich auch das AMANNsche Kupferlaktophenol[2]) bewährt, in dem diese ihre Form, die rein grünen Algen auch ihre Farbe beibehalten. Ähnliche gute Dienste leistet auch eine 2-proz. Kaliumazetatlösung, die man gerade bis zum Blauwerden mit einer geringen Menge von Kupferazetat versetzt[3]). Diese Lösung, in der die grünen Algen ihre natürliche Farbe behalten, kann gleichzeitig als Fixierungs-, Konservierungs- und Einschlußmedium dienen. Präparate, die länger aufbewahrt werden sollen, sind entweder mit Gold-Size (s. S. 128) abzuschließen oder in Glyzerin bzw. Glyzerin-Gelatine einzubetten. Zu letzterem Zweck setzt man den in der Kali-Kupferazetatlösung liegenden Objekten 10-proz. Glyzerin im gleichen Mengenverhältnis zu und läßt an einem warmen staubfreien Ort eindunsten. Dabei bildet sich an der Oberfläche leicht ein Häutchen von Azetat, das ohne Schädigung der Präparate entfernt werden kann. Die konz. Lösung muß vollkommen klar und hellgrün, das Objekt ebenso grün wie im Leben sein. Von hier aus kann schließlich die Überführung in Glyzerin-Gelatine erfolgen. — Im übrigen ist zum gleichen Zweck empfohlen worden, dem die Objekte enthaltenden Wasser soviel Formalin zuzusetzen, daß eine 4-proz. Formaldehyd-Lösung entsteht, unter Umständen noch ebensoviel Holzessig, je nach der Flüssigkeitsmenge dann kleinere oder größere Stücke Kupfersulfat zuzufügen und später das Kupfersulfalt-Formalin-Gemisch durch Kampferwasser mit etwas Kupferazetat bzw. Kupferchlorid oder durch das TEMPÈREsche Gemisch (0,2 g Kupferchlorid, 0,2 g Kupfernitrat, 1 g Phenol, 94 ccm Wasser, 1 ccm Eisessig) zu ersetzen[4]).

Für Konservierung von Meeresorganismen wurde ein Gemisch von 6 T. Aq. dest., 8 T. 90-proz. Alkohol, 4 T. 30-proz. Glyzerin und 2 T. 40-proz. Formol empfohlen. In diesem Gemisch sollen die Objekte Form und Farbe behalten[5]).

---

[1]) M. GOMONT, Journ. d. Bot., Bd. XX, 1906, S. 18. S. a. Reg. IV Konservieren.
[2]) G. LAGERHEIM, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XIV, 1897, S. 352; auch Reg. IV Laktophenol.
[3]) J. A. NIEUWLAND, Bot. Gaz., Bd. XLVII, 1909, S. 237.
[4]) H. SCHNEIDER, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXXIII, 1916, S. 249.
[5]) J. TEMPÈRE, Bull. de la soc. Belg. de Micr., XXIV. Annee, 1897—98, S. 128.

XX. Abschnitt.

Diatomeen. Spaltalgen.

Darstellung der Diatomeenskelette. Diatomeenpräparate. Kultur der Diatomeen. Testobjekte. Stark lichtbrechende Einschlußmedien. Zellinhalt der Spaltalgen. Ihre Präparation. Der Fang von Spaltalgen.

Untersuchungsmaterial.

Pinnularia viridis, lebend. — Nostoc commune, frisch. Oscillarien. Gloeocapsa polydermatica.

Anabaena Azollae. Oscillaria princeps. Oscillaria Froelichii.

Wichtigste Reagentien.

Salzsäure. — Schwefelsäure. — Chromsäure in verschiedenen Konzentrationen. — JAVELLEsche Lauge.

Die Diatomeen[1]) (Bacillariaceen) oder Kieselalgen sind einzellige Organismen, die eine für sich abgeschlossene Gruppe des organischen Reiches bilden, die meiste Verwandtschaft allenfalls noch mit den Desmidiaceen unter den Algen zeigen. Sie leben teils im Wasser, teils auf nassem Boden. Das geeignetste Objekt, um sich über den Bau der Diatomeen zu unterrichten, dürfte Pinnularia viridis sein, eine in stehenden und fließenden Gewässern sehr häufige Art. Sie zeichnet sich unter den Süßwasserformen durch ihre relativ bedeutende Größe aus und läßt überhaupt leichten Einblick in die Strukturverhältnisse ihres Körpers gewinnen. Unter dem Mikroskop, wo wir sie bei starker Vergrößerung untersuchen müssen, erscheint sie entweder als eine gestreckte Ellipse oder als ein Rechteck mit etwas abgerundeten Ecken. Im ersten Fall sehen wir sie von der Schalenseite (Fig. 180 *A*), im letzteren von der Gürtelseite (Fig. 180 *B*). In der Schalenansicht weist die Zellhaut schmale Riefen auf, die von den Rändern gegen die Mitte laufen, ohne sie zu erreichen (*A*). Der mittlere, glatte Raum, den die Riefen frei lassen, zeigt an seinen beiden Enden und in mittlerer Länge je eine stärker das Licht brechende Verdickung, die man als Knoten bezeichnet. Die beiden endständigen Knoten werden mit dem Zentralknoten durch eine Linie verbunden, welche dicht am Zentralknoten jederseits gleichsinnig ausbiegt und mit ihren beiden Enden, von derselben Seite aus, die Endknoten mond-

[1]) Vgl. E. PFITZER, in HANSTEINS Bot. Abh., Bd. I, Heft 2, 1871, S. 40, und SCHENKS Handbuch d. Bot., Bd. II, 1882, S. 410; dann die Arbeiten von OTTO MÜLLER, besonders in den Berichten d. Deutsch. bot. Ges., 1883—1909; ferner die von O. BÜTSCHLI und R. LAUTERBORN in den Verhandl. des Naturh. Med. Ver. zu Heidelberg, 1891, 1892 u. 1893, dann R. LAUTERBORN, Untersuch. üb. Bau, Kernteilung u. Bewegung der Diatomeen, 1896; O. HEINZERLING, Biblioth. Botan., H. 69, 1908; schließlich G. KARSTEN, Diatomeae, Handwörterbuch d. Naturwiss., Bd. II, 1912, S. 960 ff.

sichelförmig umfaßt. In ihrem Verlauf zwischen den Knoten erweitert sich die Linie ein wenig; sie stellt einen in das Innere der Zelle führenden Spalt vor, der als Mittelnaht oder Raphe bezeichnet wird. Auf die Gürtelansicht (*B*) greifen die Riefen nicht herüber; man sieht sie nur an den Seitenrändern des Bildes. Bei Einstellung auf den optischen Durchschnitt und genauer Betrachtung der Enden der Zelle stellen wir die merkwürdige Tatsache fest, daß ein mittlerer Streifen der Wand doppelt ist. Bei eingehender Untersuchung stellt es sich heraus, daß hier eine Einschachtelung getrennter Wandteile vorliegt. An die Ränder der beiden elliptischen Wandstücke, die wir in der Schalenansicht sahen, setzen nämlich Membranteile an, die mit freier Kante enden. Es besteht somit die Wandung dieser Zelle aus zwei Hälften, von denen die eine in der anderen steckt, eine für die Diatomeen überhaupt charakteristische Erscheinung. Das Verhalten dieser Wandung bei Pinnularia entspricht durchaus jenem einer elliptischen Schachtel mit übergreifendem Deckel. Die Seitenwände am Deckel sind ebenso hoch wie jene am Boden, doch sind beide nicht vollständig ineinander geschoben. Gehen wir an unserer Zelle aus dem optischen Durchschnitt in die Oberflächenansicht über, so können wir die Ränder der beiden Zellhälften hier als zarte Linien verfolgen. — Die beiderseitigen gerieften Flächen der Zellwand werden als Schalen, die an sie ansetzenden, frei endenden, glatten Seitenwände als Gürtelbänder bezeichnet; daher gebrauchten wir zuvor schon diese Namen für die beiden Ansichten. Es gelingt bei Pinnularia leicht, die eine Hälfte der Zellwand aus der anderen durch Druck oder mit Hilfe chemischer Reagentien zu befreien; auch findet man hin und wieder abgestorbene Exemplare, an denen sich dieser Prozeß mehr oder weniger vollständig von selbst vollzog. Beim Druck brechen die Gürtelbänder leicht in einiger Entfernung von ihren Rändern längs einer zu diesen parallelen Linie. Diese Linien, nächst jedem Rand eine, somit zwei in jeder Gürtelansicht, sind öfters zu erkennen und dürften verdünnte Stellen der Gürtelbänder sein. Sie reichen nicht bis an die Enden der Zelle. Der Inhalt der Zelle bietet ein etwas verschiedenes Bild, je nachdem eine Schalenansicht oder Gürtelansicht vorliegt. In ersterer (Fig. 180 *A*) durchsetzt ein mittlerer, heller Streifen die Zelle von einem Ende zum andern; das farblose Zytoplasma der Zelle ist sichtbar und zeigt sich in mittlerer Länge zu einer bikonkaven Plasmabrücke angesammelt. In dieser Brücke liegt der nicht immer ohne Zuhilfenahme von Reagentien sichtbare, mit einem relativ großen Kernkörperchen versehene Kern. An den hellen Streifen grenzen beiderseits mit annähernd glattem oder gebuchtetem Um-

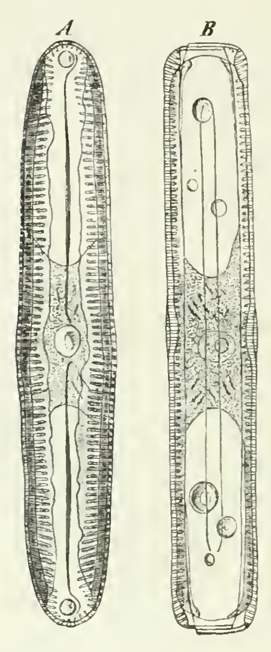


Fig. 180. Pinnularia viridis. *A* Schalenansicht, *B* Gürtelansicht. Vergr. 540.

riß die beiden braun gefärbten Chromatophoren, „Endrochromplatten"[1]). Sie liegen somit den Gürtelseiten an. In den Plasmabrücken sind kleine, paarweise parallele Plättchen zu sehen, die von der Kante betrachtet, stäbchenförmig erscheinen und wohl Reservestoffmaterial darstellen[2]). Im Plasma und Zellsaft endlich liegen meist, doch nicht immer, kleinere und größere Öltropfen, die hier an Stelle von Stärke als Assimilationsprodukt entstehen, ferner die sogenannten Volutinkörner oder -kugeln (s. weiterhin). In der Gürtelansicht erscheint der Zelleib gleichmäßig braun, weil dann der Chromatophor den ganzen farblosen Wandbeleg deckt. Nur an den beiden äußersten Enden der Zelle kommt das farblose Zellplasma jetzt zum Vorschein. Der Chromatophor ist gleichmäßig dicht und gleichmäßig gefärbt, ohne sichtbare Differenzierungen. Auch in der Gürtelansicht erscheint die zentrale Plasmaansammlung in Gestalt einer bikonkaven Brücke.

In sehr verd., wässr. Lösung von Methylenblau (etwa 0,001 %) gelingt eine Lebendfärbung der Kerne der Diatomeen; gleichzeitig treten dann auch die Volutinkugeln, kleinere, kugelige Gebilde, früher Bütschlische Kugeln genannt, gefärbt im Zytoplasma und Zellsaft hervor. Diese bestehen aus einer zähflüssigen, anscheinend eine Nukleïnsäure-Verbindung darstellenden Substanz, neben dem Volutin, das, besonders bei den Thallophyten verbreitet, in Alkohol und Äther unlöslich, in heißem Wasser, bei zerdrückten Zellen auch in kaltem, löslich ist. Besonders charakteristisch für das Volutin ist sein Verhalten bei Behandlung mit Methylenblau und Schwefelsäure. Färbt man nämlich mit Methylenblau (1 T. einer konz. alkohol. Lösung auf 10 T. Wasser) und setzt nach Eintritt intensiver Färbung 1-proz. Schwefelsäure zu, so zeigt sich der Zellinhalt entfärbt bis auf das Volutin, das dunkelblau gefärbt zurückbleibt[3]). Einige Diatomeen, wie besonders Surirella calcarata, zeigen neben dem Kern deutlich ein kleines, kugeliges Zentriol schon im Leben. Dieses liegt stets in der Einbuchtung des im ruhenden Zustand nierenförmigen Kerns. Im Stadium der Ruhe weist es keine Strahlung auf. Auch bei Pinnularia ist das Zentriol im Leben zu sehen, und zwar an Kernen, die sich zur Teilung anschicken. Es zeigt sich da von einer schönen Strahlung umgeben. Der Zellsaft lebender Diatomeen läßt sich mit Neutralrot färben. Die Membranen bleiben dabei jedoch im Gegensatz zu jenen der toten farblos, ein Verhalten, das man zur Unterscheidung lebenden Materials von totem verwenden kann[4]).

Bei Durchmusterung unserer früher hergestellten Cladophora-Präparate dürften wir andere den Fäden dieser Alge anhaftende Diatomeen finden. Sie sind zufälligerweise mit jener Alge zugleich fixiert und gefärbt worden, und wir werden nun feststellen können, daß die Härtung und Färbung bei ihnen annähernd denselben Erfolg wie bei Cladophora gehabt hat[5]).

---

[1]) Hier und da soll in ihnen, und zwar jedesmal im Zentrum, ein Pyrenoid zu beobachten sein. Vgl. O. Heinzerling, l. c., 1908, S. 48. Über den braunen Farbstoff der Diatomeen vgl. Reg. IV Diatomin.

[2]) Nach O. Heinzerling, l. c., 1908, S. 16.

[3]) Nach A. Meyer, Bot. Ztg., LXII. Jahrg., 1904, S. 139; O. Heinzerling, l. c., 1908, S. 20. S. a. Reg. IV Volutin.

[4]) O. Richter, Denkschr. Akad. Wiss. Wien, Math.-Nat. Kl., Bd. LXXXIV, 1909, S. 660.

[5]) E. Pfitzer, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. I, 1883, S. 44. Vgl. a. dies. Prakt. S. 398.

Vor längerer Zeit ist für Diatomeen das Pikrin-Nigrosin besonders empfohlen worden. Ein wenig von dem Diatomeen-Material wird in Pikrin-Nigrosin übertragen, dieses nach mehreren Std. abgegossen, die Präparate in Wasser oder meist besser in Spiritus ausgewaschen und in Glyzerin untersucht. Das Glyzerin nimmt man am besten verdünnt und läßt es langsam an der Luft sich konzentrieren. Man kann die Präparate in Dammarharz oder Kanadabalsam, wo sie einen noch reineren blauen Farbenton erhalten, einlegen. Um in Harz eingeschlossen werden zu können, müssen die Präparate zuvor mit Nelkenöl durchtränkt sein; bei Übertragung aus dem Spiritus in Nelkenöl schrumpft der Inhalt der Zellen sehr leicht zusammen. Da muß zuvor der Spiritus, bei tropfenweisem Zusatz von Alk. abs. und gleichzeitig tropfenweisem Abgießen des Gemisches, vollständig durch Alk. abs. ersetzt werden, worauf die Fäden in sehr stark mit Alkohol verdünntes Nelkenöl[1]) gelangen. Der Alkohol verflüchtigt sich durch Stehen an der Luft, so daß die Fäden schließlich in reinem Nelkenöl liegen bleiben. Von da aus werden die Fäden in die Harze übertragen.

Unter zahlreichen Pinnularia-Exemplaren kann man hin und wieder auch doppelt zusammengesetzte finden. Es sind das Schwesterexemplare, die einer kürzlich erfolgten Teilung eines Mutterexemplars ihre Entstehung verdanken. Sie haften mit den Schalenseiten aneinander, und man wird, falls ihre Wände ganz fertig ausgebildet sind, feststellen, daß die Gürtelbänder der beiden inneren Schalen in den Gürtelbändern der beiden äußeren stecken. Nach erfolgter Teilung des Inhalts der Mutterzelle sind diese inneren Wandhälften für jedes Tochterindividuum hinzugebildet worden. Jede Zelle besitzt somit eine ältere und eine jüngere Wandhälfte, und weitere Überlegung lehrt, daß der Altersunterschied zwischen den beiden Hälften ein sehr großer sein kann.

Die Pinnularia-Exemplare sind in Bewegung begriffen. Die Zellen rücken gewöhnlich in der Richtung ihrer Längsachse fort, entweder gleichmäßig oder stoßweise, auch seitlich hin und her von ihrer Bahn ablenkend. Nur die mit einer Raphe versehenen Diatomeen sind einer solchen Bewegung fähig, die allem Anschein nach durch einen in der Raphe fließenden Zytoplasmastrom vermittelt wird[2]). In ihrer Bewegungsfähigkeit besitzen die Diatomeen ein ausgezeichnetes Mittel, an Stellen zu gelangen, wo sie die günstigsten Lebensbedingungen finden[3]).

Wir stellen uns auch noch ein Präparat von Pinnularia auf einem Glimmerplättchen her und glühen es über einer Flamme. Dann legen wir das Glimmerplättchen wieder unserm Objektträger auf und betrachten das Präparat trocken, doch unter Deckglas, bei starker Vergrößerung. Wir stellen fest, daß von den Pinnularien vollständige Skelette erhalten geblieben sind. Sie sind bei kurzem Glühen von der verkohlten, organischen Substanz etwas bräunlich, bei länger fortgesetztem Glühen farblos. Salzsäure greift sie nicht an; sie bestehen aus Kieselsäure, wohl auch, wenigstens bei den Meeresdiatomeen,

[1]) E. Pfitzer, l. c., 1883, S. 46.

[2]) Vgl. vornehmlich Otto Müller, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXVII, 1909, S. 27.

[3]) Vgl. die Versuche von Th. Meinhold, Cohns Beitr. z. Biol. der Pflanzen, Bd. X, 1911, S. 374.

aus einer Kieselsäure-Natriumverbindung[1]) und zeigen die feinsten Eigentümlichkeiten der Struktur der Zellwand, welche somit hochgradig verkieselt sein mußte, erhalten. Die Riefen zeichnen sich bei diesen Präparaten sehr deutlich als dunkle Streifen; auch sonstige Struktureigentümlichkeiten der Wandung sind gut zu verfolgen. Namentlich schön sichtbar sind in der Schalenansicht die Spalten, die beiderseits vom Zentralknoten nach den endständigen Knoten verlaufen. Ihre Erweiterung in mittlerer Länge ist deutlich. In der Gürtelansicht zeichnen sich die Ränder der beiden Hälften der Zellwandung scharf; außerdem sieht man noch auf den übereinandergreifenden Teilen jene zwei zueinander und zu den Rändern der beiden Zellwandhälften parallelen Linien, welche die Enden der Zelle nicht erreichen. — Schöne Kieselskelette können wir erhalten, wenn wir auf unsere Diatomeen zunächst einen Tropfen konz. Schwefelsäure einwirken lassen, nach einiger Zeit 20-proz., dann allmählich konz. Chromsäure hinzufügen und schließlich diese Reagentien mit Wasser entfernen[2]).

Bringt man Pinnularien-Material in einen Platintiegel, übergießt es mit ein wenig Fluorwasserstoffsäure und läßt es 24 Std. im Wasserbad stehen, so ist die Kieselsäure entfernt. Bei Untersuchung des Rückstandes sehen wir, daß die Pinnularien an Volumen verloren, doch ihre Gestalt annähernd beibehalten haben. Ihr Inhalt ist gebräunt, blieb aber als solcher erhalten; von der Membran hingegen ist, falls die Einwirkuug hinreichend energisch war und lange genug andauerte, nichts zu bemerken. Sie ist durch die Fluorwasserstoffsäure vollständig entfernt, oder richtiger, die in der Zellwand mit der Kieselsäure verbundene organische Substanz war nicht in hinreichenden Mengen vertreten, um als Membran zurückzubleiben. Gleichzeitig sind aber Zellhäute von etwa vorhandenen Desmidiaceen und von andern Algen in dem Präparat zu finden. — Für andere Diatomeen wird nach Behandlung mit Fluorwasserstoffsäure das Zurückbleiben einer zarten, biegsamen, mit Jod braungelb werdenden Haut angegeben[3]). Der organische Bestandteil der Diatomeenmembran soll aus Pektinstoffen bestehen[4]). Wenigstens färben sich die nach bestimmter Vorbehandlung allein übrigbleibenden Zellhäute sehr schön mit Rutheniumrot und altem Delafieldsschen Alaun-Hämatoxylin (vgl. darüber Reg. IV). Die Vorbehandlung besteht bei den stark verkieselten Grunddiatomeen darin, daß man das Material zunächst für 24 Std. in ein Gemisch von 50-proz. Salzsäure und Chlorkali bringt, dann auswäscht, mit Alk. abs., dann mit einer sirupdicken Lösung von Kali in Alkohol weiterbehandelt, um sie dann in 96-proz. Alkohol, ferner mit Alk. abs. wieder auszuwaschen und in 3-proz. Borsäure zu übertragen, worauf die Färbung der nunmehr nur noch vorhandenen organischen Schalenteile erfolgen kann, an denen sich meist sehr schön selbst die feinsten Skulpturierungen der Schalen erkennen lassen. Somit muß die Kieselsäure mit dem organischen Bestandteil der Membran in innigster Verbindung gestanden haben. Außerdem soll noch eine freie Pektinmasse die Schalen durchdringen und auf deren Oberfläche einen oft

---

[1]) Nach O. Richter, Sitzber. K. Akad. Wiss., Wien, Math.-Nat. Kl., Bd. CXVIII, 1909, S. 1341.

[2]) S. Miliarakis, Die Verkieselung, Würzburg 1884.

[3]) E. Pfitzer in Schenks Handbuch Bd. II, 1882, S. 410.

[4]) Nach L. Mangin, Ann. d. Sc. Nat., Bot., 9. sér., T. VIII, 1908, S. 184.

besonders bei den Planktondiatomeen die feineren Strukturen verdeckenden Überzug bilden, der durch aufeinanderfolgende Behandlung mit Salzsäure, chlorsaurem Kali und Kalilauge sich blasenförmig abheben läßt. Dieser Überzug verquillt leicht und konnte so zu Verwechslung mit extramembranösem Plasma Veranlassung geben. Planktondiatomeen, deren Membranen nur schwach verkieselt und zart sind, behandelt man zwecks Studium ihrer feineren Strukturen folgendermaßen: Man mischt das die Diatomeen enthaltende Sediment mit einer Lösung von Kaliumhypochlorit, und zwar im Verhältnis von 1 ccm des in Alkohol konservierten Sediments auf 20—30 ccm der Hypochlorit-Lösung. Nach halbstündiger Einwirkung fügt man sehr viel Wasser zu, läßt absetzen, dekantiert, fügt Alkohol hinzu, den man wieder auf 1 oder 2 ccm dekantiert und dann mit sirupdicker alkohol. Kalilösung versetzt. Nach 10—12 Std. Einwirkung wäscht man zunächst mit Alkohol, dann mit Aq. dest. aus, neutralisiert mit 3-proz. wässr. Borsäure und kann nun mit altem Alaun-Hämatoxylin oder Rutheniumrot färben. Der Einschluß derartig gefärbter Präparate geschieht am besten in verd. Glyzerin oder nach Entwässerung in Alkohol mittels Nelkenöl in Xylol-Kanadabalsam. — Unter Umständen kann man Einblick in die Struktur der Diatomeen-Schalen erhalten, wenn man sie direkt unter dem Mikroskop mit Fluorwasserstoffsäure behandelt. Um die schädliche Wirkung der Dämpfe von dem Objektiv abzuhalten, schütze man die Frontlinse für die Zeit des Versuchs mit einem dünnen Glimmerplättchen und verfahre im übrigen in der S. 311 angegebenen Weise.

Zur Kultur von Süßwasser-Diatomeen kann man mit gutem Erfolg Wasser mit Grasstückchen, mit Kleie, Moosstückchen oder Mist von Wiederkäuern benutzen. Auch lassen sich künstliche Nährsubstrate für diese und marine Formen leicht herstellen (vgl. a. Reg. IV Diatomeenkultur). Die Nährflüssigkeiten muß man aber, um Reinkulturen zu erhalten, 8—10 Tage kalt stellen und dann durch Chamberland-Kerzen filtrieren. Schon nach acht Tagen pflegen die Kulturen üppig entwickelt zu sein. Sie müssen hell, jedoch nicht in direktem Sonnenlicht stehen. Das Optimum für die Diatomeenvegetation ist etwa 10—20°; unter 5 und über 45° wachsen sie nicht. Die Diatomeen lassen sich auch sehr gut auf einer Nährgelatine kultivieren[1]), die man auf einfachem Wege dadurch erhält, daß man 10-proz. Gelatine in Aq. dest. mit Natronlauge schwach alkalisch macht und die warme Lösung mittels Eiweiß klärt. Da sich herausgestellt hat, daß Kieselsäure und Kalk auf die Diatomeen wachstumfördernd wirken, so kann man der 10-proz. Gelatine in Aq. dest. noch 0,01% kieselsaures Kali ($K_2Si_2O_5$) und 0,02% Kalziumchlorid zusetzen und dann alkalisch machen und klären. Ferner wurde zur Kultur von Diatomeen ein Nähragar, Mineralsalzagar, empfohlen[2]), das auf 1000 T. Aq. dest. 18 g zwecks Entfernung der eine Bakterienentwicklung begünstigenden Stoffe gut gewässertes Agar (vgl. darüber Reg. IV), 0,2 g Kalziumchlorid, 0,2 g Kaliumnitrat, 0,05 g Magnesiumsulfat, 0,01 g kieselsaures Kali ($K_2Si_2O_5$) und eine Spur Eisensulfat enthält. Zusätze organischer Stoffe, wie Asparagin, Apfelsäure u. ä. zum Mineralsalzagar können wachstumfördernd wirken[3]). Die Kulturen entwickeln sich besonders gut bei einer mäßigen Beleuchtungsintensität, die man dadurch erreicht, daß man über die Kulturschalen doppelwandige

[1]) O. Richter, Sitzber. Akad. Wiss. Wien, Math.-Nat. Kl., Bd. CXV, 1906, S. 78.
[2]) Nach O. Richter, Ebenda, 1906, S. 78.
[3]) Vgl. Th. Meinhold, l. c., 1911, S. 365, und Reg. IV Diatomeen.

(SENEBIERsche), mit Leitungswasser gefüllte Glasglocken stellt. Durch Abimpfen von den sich auf dem Agar-Nährboden entwickelnden Diatomeen-Kolonien und weiteres Fortsetzen der Kulturen kann man schließlich vollkommen bakterienfreie Reinkulturen erhalten.

Zur Kultur brauner Meeresdiatomeen wählt man am zweckmäßigsten folgende Zusammensetzung des Nährsubstrats: auf 1 l Aq. dest. 18 g gewässertes Agar, 0,2 g Dikaliumphosphat, 0,2 g Kaliumnitrat, 0,05 g Magnesiumsulfat, eine Spur von Eisensulfat, dazu 10 oder 20 g Chlornatrium und vorteilhafterweise, aber nicht unbedingt nötig, 0,05 g kieselsauren Kalk ($CaSi_2O_3$). Bei absoluten Reinkulturen läßt sich das Agar im Rezept durch 100 g Gelatine ersetzen, die dann schwach alkalisch gemacht und mit Eiweiß geklärt werden muß. — Für die Kultur farbloser Meeresdiatomeen suche man sich zunächst durch Züchtung auf Agar (18 g gewässertes Agar auf 1 l des Meerwassers, dem die Diatomeen entstammen) und fortgesetztes Überimpfen eine Reinkultur herzustellen, die man dann auf einem organischen Nährboden weiterzüchtet, der auf 1 l Meerwasser 18 g gewässertes Agar bzw. 100 g Gelatine, ferner 5 g Pepton und 5 g Dextrin enthält. Verwendet man Gelatine, so muß das Nährsubstrat auch wieder alkalisch gemacht und geklärt werden. Bei Mangel von Meerwasser nehme man auf 1 l Aq. dest. 10 g Chlornatrium, 5 g Pepton, 5 g Dextrin, 18 g Agar bzw. 100 g Gelatine, bei deren Zusatz das Substrat wieder, wie vorhin angegeben, behandelt werden muß[1]). — Zu den Reinkulturen der Diatomeen in Nährflüssigkeiten benutzt man am besten die MIQUELsche Kulturzelle[2]). Diese besteht aus einem Objektträger, der in der Mitte, aber in der Nähe einer Langseite ein kleines Loch besitzt. Ein Glasring von 5—8 mm Durchmesser wird auf den Objektträger so gekittet, daß das Loch stark exzentrisch in ihm zu liegen kommt. Den Innenraum des Rings füllt man nun mit der Nährlösung an, jedoch nur z. T., so daß beim Auflegen des Deckglases eine große Luftblase zurückbleibt. Man bringt diese Kulturzelle in der Regel in eine solche Lage, daß sie ihr Deckglas nach unten kehrt, die am Boden zur Entwicklung gelangenden Individuen somit das Deckglas bedecken. Für Diatomeen aber, die dem Licht zustreben, lassen sich ähnliche Zellen herstellen, deren Glasring seitlich durchbrochen ist. Ein solcher Objektträger muß während der Kultur und Untersuchung in vertikaler Lage mit der Öffnung nach oben gehalten werden; zur Beobachtung muß dann natürlich ein horizontal gelegtes Mikroskop benutzt werden. Aussaaten von nur einer Diatomee sind nicht leicht auszuführen; man sucht erwünschte Individuen mit einer Schweinsborste aus der Mischkultur herauszufischen.

Einfacher läßt sich die Kultur der Diatomeen, von einem oder wenigen Individuen ausgehend, auch im Hängetropfen mit Hilfe hohlgeschliffener Objektträger oder der sonst üblichen feuchten Kammern ausführen[3]). Der Vorzug dieses Verfahrens besteht darin, daß auch mit mittleren und starken Objektiven eine genaue Kontrolle der ganzen Kultur möglich ist, während die Tiefenverhältnisse der MIQUELschen Kulturzelle nur die Anwendung schwacher Systeme zulassen. Der Hängetropfen läßt auch Versuche über die Vermehrungsfähigkeit der Diatomeen unter verschiedenen Bedingungen zu, was im besonderen für die Zwecke der

[1]) Nach O. RICHTER, l. c., 1909, u. nach briefl. Mitteil. S. a. Reg. IV Diatomeen.
[2]) P. MIQUEL, Le Diatomiste, Bd. I, 1893, S. 165 ff.
[3]) G. KARSTEN, Flora, Bd. LXXXIX, 1901, Erg.-Bd., S. 404 ff.

rationellen Fischzucht von Bedeutung ist. Absolute Reinkulturen unter Ausschluß auch der Bakterien sind freilich in solchen Hängetropfen nicht leicht zu erhalten, für die meisten Zwecke aber auch kaum erforderlich.

Eine anhaltende Beobachtung von Diatomeen läßt sich auch auf Objektträgern vornehmen, auf denen sich Diatomeen festgesetzt haben[1]. Möglichst reine, völlig benetzbare Objektträger werden zu diesem Zweck schräg an der Wand geräumiger Glashäfen aufgestellt, in die frisch eingesammeltes, von fremden Organismen möglichst freies, nicht zu reichliches Material in hinreichender Wassermenge gebracht wurde. Der Objektträger ist alsbald von verschiedenen Diatomeen-Individuen bezogen. Er wird nun für die Beobachtung auf einen größeren gelegt, für eine möglichst wagerechte Stellung des Objekttisches gesorgt und etwas Wasser aufgetropft, doch so viel nur, daß eine Untersuchung der Diatomeen mit stärkeren Trockensystemen, ohne Benetzung der letzteren, möglich bleibt. Deckgläser dürfen nicht aufgelegt werden. Das Material verträgt so sehr gut die Beobachtung; dabei kann dasselbe Individuum in seiner Entwicklung so oft wie nötig kontrolliert werden. Auch lassen die untersuchten Individuen sich auf dem Objektträger fixieren und sich dann auf ihm den weiteren Manipulationen der Färbung und Entwässerung unterwerfen. So gelingt es unter Umständen, auch die Kopulationsvorgänge direkt zu verfolgen.

Die von uns als Beispiel gewählte Pinnularia viridis führte uns einen verhältnismäßig einfachen Bau des Plasmaleibes vor Augen. Die Beobachtung anderer lebender Formen würde uns bald lehren, daß die Mannigfaltigkeit des plasmatischen Aufbaues bei Diatomeen dem Reichtum der Schalenform und Ausstattung vollkommen die Wage hält.

Ein eingehenderes Studium der Zellwand der Diatomeen geschieht am besten an Querschnitten[2]. Man setzt einen Tropfen dicker Gummilösung den eben geschnittenen Endflächen eines Holundermarkstückchens auf, streut möglichst reines Diatomeen-Material über ihn und rührt mit einer Nadelspitze um. Nachdem die Gummilösung hart geworden ist, führt man bei Vermeidung jeder Feuchtigkeit sehr zarte Querschnitte mit einem Skalpell oder Rasiermesser aus. Die Gummiteilchen werden trocken auf den Objektträger gebracht und mit einem Deckglas überdeckt, das man an den Ecken mit je einem Kanadabalsamtropfen fixiert, worauf man von den Rändern aus hinreichend dünnflüssigen Kanadabalsam hinzutreten läßt. Bei aufmerksamem Suchen findet man oft die gewünschten Schnitte, die man durch Rücken am Deckglas auch wohl in die richtige Lage bringen kann. — Sicherer, doch weit mühsamer, kommt man zu richtig geführten Schnitten, wenn man den Diatomeen die gewünschte Lage in der Einbettungsmasse gibt[3]. Handelt es sich um ganze Exemplare samt Inhalt, so färbt man sie zunächst, etwa mit Pikrokarmin, und bringt sie dann in Alkohol. Auf einem Objektträger wird hierauf eine Stelle mit ganz dünner Kollodiumschicht überzogen und, nachdem diese trocken geworden, ein Tropfen sehr dicker Gummilösung auf sie gebracht. Die Diatomeen werden nun in größerer Menge in den Gummitropfen übertragen, in dem sie mit sehr feiner Nadel unter entsprechend starker Vergrößerung gerichtet werden. Man schiebt sie gegen den eintrocknenden Rand des Schnittes, wo sie fest liegen bleiben, und ordnet

---

[1]) G. Karsten, Flora, Bd. LXXXII, 1896, S. 287.

[2]) Vgl. L. Flögel, Archiv f. mikr. Anat., Bd. VI, 1870, S. 473; E. Pfitzer, in Hansteins Bot. Abhandl., Bd. I, 1870, S. 42 u. 43.

[3]) Nach L. Flögel, Journ. of the Roy. micr. Soc., Bd. IV, 1884, S. 505.

sie dort parallel zueinander. In dem Maße, als der Rand eintrocknet, werden ihm kleine Tropfen von flüssigem Gummi mit der Nadel aufgetragen. Ist die Manipulation vollendet und sind die Diatomeen hinlänglich in Gummi eingebettet, so wird die Oberfläche ebenfalls mit einer Kollodiumschicht überzogen. Man schneidet nun aus dem flachen Gummitropfen ein viereckiges Stückchen heraus, das die Diatomeen enthält, und hebt es von dem Objektträger ab. Dieses Stückchen wird in einen flachen, fast trockenen, auf einem Kartonblatt befindlichen Gummitropfen übertragen und entsprechend in ihm fixiert. Man schneidet hierauf in der gewünschten Richtung. — Handelt es sich um gereinigte und getrennte Schalenhälften, so können sie direkt auf einen flachen, trockenen, auf Kartonpapier befindlichen Gummitropfen gelangen. Die Diatomeen müssen aber zu diesem Zweck zunächst auf einen Objektträger in einen Wassertropfen gebracht werden, den man austrocknen läßt. Auf einen anderen Objektträger gießt man Terpentin und läßt es abfließen. In diese dünne Terpentinschicht wird die Spitze einer feinen Nadel getaucht, die man hierauf in Berührung mit einer Diatomee bringt. Diese haftet an und wird auf die Gummischicht übertragen, die man durch Anhauchen befeuchtet. So bleiben die Diatomeenschalen auf der Gummischicht haften, werden dort entsprechend angeordnet und weiter mit geringen Gummimengen bedeckt. Diese Operation ist viel einfacher als die erste, kann aber im ersten Fall nicht in Anwendung kommen, weil sich die ganzen Individuen hierbei mit Luft füllen und dann nicht gut geschnitten werden können. Beim Schneiden ist auch hier jede Feuchtigkeit zu vermeiden. Die Überführung in Kanadabalsam erfolgt in der schon vorher (S. 432) geschilderten Weise. Von großem Wert ist es, die Schnitte in entsprechender Reihenfolge mit der Nadel auf dem Objektträger anzuordnen, so daß man Serienpräparate erhält. Diese Präparate halten sich aber nicht unbegrenzt. — Man hat es auch versucht, die zu schneidenden Diatomeen in Kanadabalsam einzubetten. Auch hat man Kieselgur-Stücke mit Kanadabalsam durchtränkt und nach dem Erhärten des Balsams Dünnschliffe ausgeführt[1]). Desgleichen kamen Chlorzink oder Chlormagnesium, mit ihren respektiven Oxyden vermischt, als Einbettungsmassen zur Verwendung. Diese Massen erhärten und lassen sich alsdann schleifen[2]). — Ebenso hat man es unternommen, Abdrücke von Diatomeen-Schalen mit Kollodium herzustellen[3]). Eine kleine Partie rein präparierter Schalen wird dazu auf dem Objektträger in einem Tropfen Aq. dest. verteilt und nach Verdunsten des Wassers auf die Stelle ein Tropfen Kollodium gebracht. Die eintrocknende Kollodiumhaut zieht sich von dem Glase ab und nimmt die Diatomeenschalen mit. Diese Schalen werden durch die Kontraktion der Haut und ihre Krümmungen meist zersprengt. Man hebt die Kollodiumhaut ganz ab, wendet sie um und sucht bei hinreichend starker Vergrößerung völlig klare Stellen aus. Diese werden herausgeschnitten und die anhaftenden Schalenstückchen mit einem fein zugespitzten, harten Hölzchen entfernt. Die Untersuchung der Kollodium-Abdrücke erfolgt trocken, unter Deckglas. — Endlich kann es den Einblick in die Strukturverhältnisse einer Diatomeenschale erleichtern, wenn man deren Bruchstücke studiert, auch wenn man während der Beobachtung

---

[1]) M. Prinz, Bull. d. séances de la soc. Belg. de Micr., Bd. IX, No. 9.
[2]) J. Deby, Journ. Quek. Micr. Club, Bd. II, 1886, S. 308, und Journ. de Microgr. von J. Pelletan, 1886, S. 416.
[3]) L. Flögel, Arch. f. mikr. Anat., Bd. VI, 1870, S. 489.

trockner Schalen geringe Mengen einer gefärbten Flüssigkeit, die langsam an den Schalen vordringt, zutreten läßt.

Die merkwürdige Erscheinung der Zusammensetzung der Zellwand aus zwei Stücken ist auch den andern Diatomeen eigen; ebenso sind an den freilebenden ganz allgemein Bewegungserscheinungen zu beobachten. Selbst viele angewachsene und in Gallertröhren eingeschlossene Diatomeen sind, befreit, der Bewegung fähig, während diese bei fadenbildenden und freischwebenden meist fehlt.

Wegen der oft äußerst feinen Strukturverhältnisse ihrer Zellwand wurden die Diatomeen früher und unter Umständen jetzt noch als Testobjekte für die Prüfung stärkerer mikroskopischer Objektivsysteme benutzt. Angewandt werden besonders die Schalen von Pleurosigma angulatum, die bei hinreichend starker Vergrößerung regelmäßig angeordnete Sechsecke zeigen.

Man kommt kaum in die Lage, sich Testobjekte selbst herzustellen, da diese in jeder optischen Anstalt oder Werkstatt zu haben sind. Wohl aber wird man sich unter Umständen eine Sammlung von Schalen dieser zierlichen Organismen anlegen, sie auch eingehender studieren wollen, weshalb hier noch nähere Angaben über die Präparations-Methoden folgen[1]). Zunächst sei erwähnt, daß man die Süßwasser- wie die Meeres-Diatomeen besonders reichlich im Frühjahr und im Herbst findet. Rostfarbige und goldbraune, schleimige Überzüge am Boden und an Steinen in relativ reinen, stehenden und fließenden Gewässern, an Mühlrinnen und Mühlrädern weisen auf das Vorhandensein von Diatomeen hin. Auch finden sie sich oft an feuchten Stellen in Gewächshäusern, denen sie namentlich zur Winterszeit entnommen werden können. Viele Diatomeen haften an Wasserpflanzen. Die großen, kompakten Moosrasen an feuchten Felswänden sind ferner wahre Fundgruben für Diatomeen, so auch am Meer die Felsen in der Grenzzone von Ebbe und Flut. Manche schöne Diatomeen-Arten treiben in Gestalt eines leichten Schleims an der Wasseroberfläche. Zum Sammeln der Diatomeen bedient man sich mit Vorteil eines Löffels, der sich auch an einem Stock befestigen läßt. Aus sehr zahlreichem Material schöpft man besser noch mit einem Marder-Pinsel. Die flottierenden Formen fischt man mit einem feinen Netz aus Seidengaze[2]). Das Sammeln muß in getrennten Gefäßen erfolgen, etwa Röhren von 12 cm Länge und 16 mm Durchmesser. Die Unterscheidung der Formen während des Sammelns wird durch einen sog. Algensucher ermöglicht, der über 100-fach vergrößert und bei fast allen Optikern zu haben ist[3]). Von den gesammelten Diatomeen legt man Kulturen auf Suppentellern an. Die Wasserschicht sollte nicht über 1 cm Höhe betragen, die Teller im allgemeinen an kühlen, schattigen Orten gehalten werden, doch bei Berücksichtigung der Bedingungen, unter denen man die Diatomeen im

[1]) Wo nicht anders angeführt, die Angaben vornehmlich nach E. Debes, Hedwigia. Bd. XXIV, 1885, S. 151—166, und Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. II, 1885, S. 411, 569; Bd. III, 1886, S. 27, 330; Bd. VI, 1889, S. 283; zum Teil auch nach J. Rataboul in Journal de Micrographie von J. Pelletan, Bd. VII u. VIII, a. v. O.

[2]) Vgl. im übrigen Fr. Oltmanns, Morph. u. Biol. d. Algen, 1905, Bd. II, S. 377, bzw. 2. Aufl., Bd. III, 1923; ferner H. v. Schönfeldt, Diatomaceae Germaniae, 1907; O. Zacharias, Das Süßwasserplankton, 1907; W. J. Dakin, Proc. and Transact. Liverpool Biol. Soc., XXII, 1908, S. 500.

[3]) *Leitz* liefert einen 100 fach vergrößernden Algensucher (Katalog 46 C, Nr. 242) für 240 M.

Freien fand. Aus stark verunreinigtem Material kann man gleich verhältnismäßig reine Kulturen gewinnen, wenn man es in einem Musselinsäckchen in die Wasserschicht des Tellers legt; die beweglichen Diatomeen wandern alsbald durch die Maschen des Gewebes in das umgebende Wasser aus. Zufluß von frischem Wasser zu den Kulturen ist notwendig. Man läßt es durch Saugdochte oder Flanellstreifen zutreten oder besser noch mit Hilfe der S. 420, 421 beschriebenen Einrichtung. Zu stark darf der Wasserzufluß nicht sein, um die Diatomeen nicht wegzuschwemmen. Alle 14 Tage sollte man die Schlammschicht in den Tellern durch Umrühren auflockern. — Eine wichtige Fundgrube für Diatomeenschalen sind auch die Algen und andere Wasser- und Sumpfpflanzen in den Herbarien, sowie auch die Muscheln der Sammlungen; an frischen Austernschalen trifft man die Diatomeen oft noch lebendig an. Man befreit sie von den Schalen mit einem in schwach salzsäurehaltiges Wasser eingetauchten Pinsel und sammelt sie als Satz aus solchem Wasser auf. Nicht minder sind Diatomeenschalen in den Verdauungsorganen der in Alkohol aufbewahrten Mollusken, Holothurien, Krebse und Fische anzutreffen. Sehr schöne Diatomeenschalen liefern auch die verschiedenen Sorten von Guano.

Das auf seine Schalen hin zu präparierende Diatomeen-Material muß vor allem möglichst frei von fremden Beimengungen sein; man befreit es davon durch Schlämmen und durch Sieben. Zu letzterem Zweck dient eine Siebskala, und zwar eine Anzahl verschieden weitmaschiger Drahtsiebe und eine Anzahl verschieden engmaschiger Seidengazesiebe, die man sich in passender Gestalt und entsprechender Weite zu beschaffen suchen muß. Beim Sieben wie beim Schlämmen darf nie zuviel Material auf einmal in Behandlung genommen werden. — Ist das Material trocken und stark mit Erde versetzt, so wird es zerbröckelt und mit Wasser aufgerührt, wobei die befreiten Diatomeen unter Umständen schon aufsteigen. Man filtriert sie ab und schwemmt mit kochendem Wasser vom Filter ab. Will das Material in Wasser nicht zerfallen, so kocht man es vorteilhaft unter Zusatz von etwas Salzsäure; die aufsteigenden Diatomeen werden abfiltriert oder durch Schlämmen, die schwereren Formen durch Sieben gewonnen. An Algen festsitzende Diatomeen kocht man in Wasser nach Zusatz von 20—30 T. Salzsäure und trennt sie dann durch eins der gröberen Siebe von den Algenresten. Zerfallen die Algen in Gallerte, so muß diese durch Kochen in konz. Salzsäure zerstört werden. Handelt es sich um die Gewinnung der Diatomeen aus Meeresschlamm, und sind sie nach den bisher angegebenen Methoden nicht zu befreien, so versucht man es, die Masse etwa 15 Min. lang in 0,25—0,5-proz. Kalilauge zu kochen, mit Säure zu neutralisieren, auszuwässern und dann zu sieben. Beim Sieben wird das in jeder Siebnummer zurückbleibende Material besonders aufbewahrt und für sich weiter behandelt. Zur Trennung von den mineralischen Bestandteilen empfiehlt sich auch sehr Kaliumquecksilberjodid (Jodkalium-Quecksilberjodid mit einem Überschuß von Quecksilberjodid), das von *Dr. G. Grübler & Co.*-Leipzig zu beziehen ist und das, konzentriert, ein spezifisches Gewicht von 3,196 besitzt. Durch Wasserzusatz bringt man diese Lösung auf die gewünschte Schwere von etwa 2,3, die dann erreicht ist, wenn ein Stückchen Glimmer rasch sinkt, während ein Stückchen Alkali-Glas flottiert oder nur sehr langsam sinkt. Man vermischt das Material mit dieser Lösung und läßt sie so lange stehen,

bis sie sich mit einer Diatomeen-Schicht rahmartig bedeckt, andererseits einen Bodensatz gebildet hat. Die Flüssigkeit wird nach dem Gebrauch filtriert und auf dem Wasserbad konzentriert, wobei deren Behandlung ihrer großen Giftigkeit wegen Vorsicht erheischt. — Fossiles Diatomeen-Material wird, je nachdem es pulverig oder zerreibbar, wie rezentes behandelt. Leiden die Formen beim Zerreiben, so übergießt und durchtränkt man das Material mit einer bei 35—40° gesätt. Lösung von kristallisiertem, schwefelsaurem Natron in Wasser. Das beim Erkalten kristallisierende Salz bringt das Material zum Zerfallen. Durch wiederholtes Erwärmen und Abkühlen kann die Lösung und Kristallisierung des Salzes mehrmals wiederholt werden. Auch bei tonigen Massen wird man mit Vorteil Glaubersalz anwenden. Bei nachheriger Behandlung mit Säuren oder auch mit Kalilauge ist Vorsicht zu üben, da die fossilen Formen leicht leiden. Von anderer Seite ist empfohlen worden[1]), für die Isolierung von Diatomeenschalen aus Diatomeen-haltigem Gestein kleine Bruchstücke des Gesteins in einem Reagenzglas mit Kristallen von Natriumazetat des Handels (nicht des reinen Salzes) etwa 2 cm hoch zu bedecken und 1—2 Tropfen Wasser hinzuzufügen. Dann wird das Glas in ein Wasserbad gebracht, wobei das Salz sich löst, wenn das Wasser annähernd seinen Siedepunkt erreicht. Man läßt so etwa 10 Min. lang einwirken und kühlt entweder langsam oder auch rasch durch Eintauchen in kaltes Wasser ab. Ein minimaler Kristall von Natriumazetat, den man hierauf in die Lösung wirft, bringt sie zum Auskristallisieren. Man wiederholt etwa 2—3mal diese ganze Operation, durch die das Gestein meist zu Pulver verwandelt wird. Dann fügt man einen Überschuß von Wasser hinzu, löst das Salz auf und gießt alles in einen größeren Behälter mit Wasser. — In festem Gestein eingeschlossene Diatomeen können nur dann durch Salzsäure oder Salpetersäure befreit werden, wenn dieses Gestein aus kohlensaurem Kalk besteht. Bei unlöslichem Gestein werden Dünnschliffe notwendig. — Guano wäscht man zunächst mit Wasser wiederholt aus und kocht dann die Masse etwa eine Viertelstunde lang in einer 6—8-proz. Sodalösung. Dann wird die Masse gut ausgewaschen und in gleichen Teilen von Wasser und Salpetersäure ca. 10 Min. gekocht. Nach wiederholtem Auswaschen folgt ein nochmaliges 5—10 Min. langes Kochen in dieser Salpetersäure; dann Auswaschen mit kochendem Wasser. Hierauf kocht man einige Augenblicke in Salzsäure und wäscht wieder mit kochendem Wasser. Eine Behandlung mit konz. Schwefelsäure hat sodann zu erfolgen und nach dem Schwarzwerden der Masse ein Zusatz von Salpetersäure, wobei die schwarze Farbe in Rot, dann in Dunkelgelb und endlich in Hellgelb überzugehen hat. Ein Auswaschen mit warmem Wasser schließt die Operation. — Frisch gesammeltes Material, das bereits mit Hilfe der geschilderten, vorbereitenden Manipulationen von fremden Beimengungen möglichst befreit wurde, kocht man 20—40 Min. in konz. Salpetersäure. Dabei werden die organischen Beimengungen zerstört und die Schalenhälften meist voneinander getrennt. Bei Individuen, die zu Kolonien verbunden sind und in solchem Zusammenhang erhalten werden sollen, darf die Behandlung mit Salpetersäure nicht zu lange fortgesetzt werden, damit ungetrennte Exemplare neben getrennten verbleiben. Bei Formen, die sich besonders schwer spalten, läßt man auf die Behandlung mit Salpetersäure ein etwa

---

[1]) M. GUINARD, Soc. Belg. de Microsc., Bd. XIII, 1886—87, S. 180.

20 Min. langes Kochen in Schwefelsäure folgen. Ebenso verfährt man, wenn nach der Behandlung mit Salpetersäure noch organische Beimengungen verblieben. Sind diese auch in der Schwefelsäure nicht völlig verschwunden, so sucht man sich mit Schlämmen, evtl. mit Durchziehen zu helfen. Zuvor muß durch Auswaschen mit Wasser die Säure vollständig beseitigt worden sein. Beim Schlämmen sinken, soweit es sich um leichtere Formen handelt, die Beimengungen schneller zu Boden, während die Diatomeen im Wasser noch suspendiert sind und durch wiederholtes Abgießen mehr oder weniger rein sich gewinnen lassen. Die derberen Formen werden hingegen schneller als die Beimengungen sinken, so daß man letztere abgießen kann. Führt das Schlämmen nicht zum Ziel, so versucht man es mit einem Gazesieb, dessen Maschen so eng sein müssen, daß es die betreffende Spezies nicht durchläßt. Das Material wird mit der Spitze eines feinen, langhaarigen Pinsels mit wenig Wasser sanft auf der Gaze gerührt und gerieben, so daß die zerkleinerte, organische Substanz bei Zusatz von Wasser das Sieb passiert. Dabei erfolgt auch die Trennung noch ungespaltener Schalen. Hat auch diese Behandlung nicht den gewünschten Erfolg gehabt, so wird das gut ausgewässerte Material in 0,1 bis 0,5-proz. Kalilauge gelinde gekocht und zwar so lange, als sich die Kalilauge noch trübt. Dann setzt man so lange Salzsäure oder Salpetersäure hinzu, als noch Aufbrausen erfolgt, und wässert hierauf gut aus. Bei allen diesen Operationen hat man den Erfolg mikroskopisch zu kontrollieren; namentlich ist dies bei Behandlung mit Kalilauge nötig, wo wenige Min. zu langes Kochen das ganze Material verderben kann. Man verwendet daher am besten sehr schwache Kalilauge. — Nicht alle Formen vertragen die Behandlung mit dem Pinsel. — Manche Formen, die schwer zerfallen, tun es oft nachträglich, in Wasser aufbewahrt, von selbst. In allen genannten Fällen, wo ein Kochen in Säuren usw. angegeben ist, benutze man einen Abzugsschrank oder führe das Kochen im Freien aus. Unnötig ist diese Vorsicht u. a. bei folgender Methode. Man übergießt das Material in einem Becherglas mit Salzsäure, läßt einen Tag stehen, wäscht mit Wasser gründlich aus, gießt das Wasser vorsichtig ab und setzt zu dem Rückstand ein etwa fünffaches Volumen von Schwefelsäure. In die geschwärzte Masse wirft man nach einem Tag etwas pulverisiertes Kaliumbichromat, läßt es bei öfterem Umrühren 8 Tage lang wirken und wäscht wieder sorgfältig aus. Es bleibt dann ein weißer Bodensatz zurück, den man, falls er bei mikroskopischer Betrachtung sich nicht rein genug erweist, mit einem erbsengroßen Stück venezian. Seife vorsichtig kocht, dann wieder auswäscht[1]). — Um etwa noch zurückgebliebene, mineralische Bestandteile zu entfernen, bringt man ein wenig von dem Material in ein Uhrglas, füllt dieses bis auf $^3/_5$ mit Wasser und läßt es stehen, bis sich alles abgesetzt hat. Dann schwenkt man das Uhrglas im Kreise und erzeugt so einen mittleren Wirbel, in dem die Diatomeen aufsteigen. Man saugt sie nun mit der Pipette auf, wiederholt unter Umständen mehrfach die Operation. Die nicht sofort im Präparat einzuschließenden Diatomeen werden in Alkohol aufbewahrt. — Verschieden große Formen der Diatomeen lassen sich oft durch Aussieben oder auch durch Schlämmen voneinander trennen. Manchmal steigt aus trocknem, aufgeweichtem Material nur eine bestimmte Form auf und läßt sich in solcher Weise rein gewinnen. Auch beim Kochen

---

[1]) Nach A. FRANKE, Naturw. Wochenschr., N. F., Bd. VI, 1907, S. 464.

bilden sich oft schaumige Massen, die nur eine Form enthalten. Beim Stehen im Uhrglas haften manche, namentlich die scheibenförmigen Formen, fester am Boden, so daß die andern sich leicht abgießen lassen.

Ein langsames Verfahren, das sich aber namentlich bei kieselarmen Diatomeenschalen sehr empfehlen läßt, ist die mehrere Tage andauernde Behandlung der Diatomeen mit Salzsäure und chlorsaurem Kali[1]). Das Gemisch steht in der Sonne oder auf einer warmen Ofenplatte und wird öfters umgerührt. Das chlorsaure Kali wird allmählich in kleinen Kristallen zugesetzt. Die Wirkung dauert an, bis die Diatomeen weiß geworden sind. Sollte der Inhalt der Diatomeen durch diese Behandlung nicht ganz zerstört werden, so gießt man vorsichtig die saure Flüssigkeit ab und läßt wässr. Ammoniak 1—2 Tage einwirken. Dieses wird dann dekantiert und hierauf einige Tage mit kalter Salpetersäure nachbehandelt.

Als relativ einfaches Präparations-Verfahren, durch das der Zellinhalt zerstört und meist gute Schalen-Präparate erzielt werden können, hat man die Behandlung mit übermangansaurem Kali empfohlen[2]). Zu der frischen Diatomeen-haltigen Masse werden Kristalle von übermangansaurem Kali und ein wenig Wasser (etwa 1 T. des Salzes auf 10 T. Wasser), zu trocknem Material eine konz. Lösung dieses Salzes, die selbst noch einige ungelöste Kristalle führt, zugesetzt. Man schüttet das Gemisch in ein Kölbchen von etwa 100 ccm, so daß es dessen Boden deckt, stellt es auf eine warme Ofenplatte oder in die Sonne und rührt von Zeit zu Zeit um. Man füllt dann das Gefäß zur Hälfte mit Wasser und fügt annähernd 0,5 g gebrannte Magnesia hinzu. Nach 2—3 Std. gießt man alle 10 Min. je 1 g Salzsäure hinzu, bis der Inhalt des Gefäßes entfärbt ist. Es folgen sodann die gewohnten Waschungen, die mit Aq. dest. auszuführen sind[3]).

Das Glühen der Diatomeenschalen auf dem Deckgläschen ist meist nicht zu empfehlen; es wird nur notwendig bei Herstellung von Testobjekten, wo die Schalen so dicht am Deckglas haften sollen, daß keine Luftschicht sie von diesem trennt. Das Erhitzen erfolgt nur kurze Zeit über einer Spiritusflamme bis zur Rotglut auf einer Silber- oder Platinplatte. Vorsicht ist nötig, damit Deckglas und Platte nicht zusammenschmelzen. Stellt man Trockenpräparate her, so legt man das Deckglas auf einen zuvor gezogenen und gut ausgetrockneten Lackring, am besten von alkoholischer Schellacklösung. Man fährt dann vorsichtig mit einem heißen Glas- oder Metallstäbchen um das Deckglas, damit es an der Ringoberfläche anschmelze; eine offene Stelle darf nicht übrig bleiben, weil sonst der Lack, mit dem man hierauf den Abschlußring zieht, unter das Deckglas vordringt. — Diatomeen, die man einzeln aussuchen muß, werden von größeren Deckgläsern, auf denen man sie zunächst austrocknen läßt, auf das definitive Deckglas übertragen. Dazu benutzt man ein Stäbchen mit einer Borste, am besten der Augenwimper eines Schweins. Die Schalen werden unter dem Präpariermikroskop bei 30—60 facher Vergrößerung aufgesucht; sie haften leicht an der Borste. Zum Abhalten des durch Atmen entstehenden Luftzugs muß ein handgroßes Stück Karton vor Mund und Nase befestigt oder einer der S. 9 angeführten Hauchschirme benutzt werden. Damit die Schalen an dem sie aufnehmenden

---

[1]) J. Brun, Journal de Micrographie von J. Pelletan, Bd. III, S. 409.

[2]) J. Brun, Ebenda, Bd. VI, S. 457.

[3]) Vgl. außerdem H. van Heurck, Traité des Diatomées, Anvers 1899.

Deckglas gut haften, bringt man einen Tropfen Petroleum, das mit Benzin oder Petroleumäther stark versetzt ist, darauf; es breitet sich da in einer äußerst dünnen Schicht aus. Auch die Borstenspitze kann man mit diesem Petroleum feucht halten. Durch langsames Erwärmen läßt man die Petroleumschicht später abdunsten. Sollen die übertragenen Diatomeen an einer bestimmten Stelle haften, so wird das Deckglas mit Schellack oder Kopal überzogen. Hierzu ist möglichst heller Schellack zu benutzen, der in viel Äther gelöst und durch mit Äther ausgelaugte Knochenkohle filtriert wurde. Die Lösung muß ganz klar sein, am besten läßt man sie wochenlang stehen und gießt die geklärte Flüssigkeit von dem Bodensatz ab. Besonders empfehlenswert ist der nach der Wittschen Methode gereinigte, in Isobutylalkohol gelöste Schellack, der von *Dr. G. Grübler & Co.*-Leipzig zu beziehen ist. Auch der andererseits empfohlene[1]) Kopal wird in Isobutylalkohol gelöst. Diese Lösung kann man sich leicht selber herstellen. Man muß sich aber jene Kopalsorten des Handels anschaffen, die wohl in Isobutylalkohol, nicht aber in Terpentin sich lösen, vor allem die Zanzibar-Kopale. Die Deckgläser werden mit einem Tropfen der Schellack- oder Kopallösung versehen, die sich rasch bis zum Rand ausbreitet und, vor Staub geschützt, alsbald zu einem glänzenden Überzug eintrocknet. Die Diatomeen werden auf die Harzschicht des Deckgläschens gelegt, an der sie haften, und das Deckgläschen nun auf einer Metallplatte über der Spirituslampe erhitzt. Zur Kontrolle legt man Splitterchen Harz neben das Deckglas auf die Platte. Sind diese vollständig geschmolzen, so sind auch die Diatomeen auf dem Deckglas fixiert. Dann wird das Einschlußharz dem Deckglas aufgetragen und gewartet, bis es erhärtet. Dieses Harz darf nicht in Alkohol oder Chloroform, die den Schellack angreifen, gelöst sein. Auf den Objektträger wird ein Tropfen des Einschlußharzes gebracht und das Deckglas aufgelegt. Das am Deckglasrand vortretende Harz wird mit in Chloroform angefeuchtetem Pinsel entfernt. Der Umstand, daß die Schellack- und Kopal-Fixierung die Anwendung von sehr bequemen, in Chloroform gelösten Einbettungsharzen ausschließt, wurde Veranlassung, daß noch andere Fixierungsmittel zur Anwendung kamen[2]). Besonders bewährte sich der als „Syndetikon" überall erhältliche Fischleim. Es werden 4 ccm davon mit 25 ccm 64-proz. Essigsäure unter leichtem Schütteln gemischt, dann 5 ccm Alk. abs. ferner 3 ccm Isobutylalkohol zugesetzt. Mit einer Pipette bringt man eine geringe Menge der Lösung auf das gut gereinigte und durch eine Spiritusflamme gezogene Deckglas, wo sie sich ausbreitet und rasch trocknet. Vor oder nach dem Auftragen der Diatomeen haucht man diese Schicht an, was meist genügt, um die Leimschicht so zu erweichen, daß die Diatomeen an ihr festhaften. Nach Bedarf wiederholt man das Anhauchen. Die so fixierten Diatomeen behalten bei Anwendung jeglicher Einschlußharze ihre Stellung. Bei dickeren Diatomeen kittet man Ringe aus Glas oder Zinnfolie dem Deckglas vor dem Auflegen an. Der Ring muß mit dem Einschlußharz erfüllt sein und dieses völlig austrocknen, bevor das Deckglas dem Objektträger, der nunmehr auch einen Tropfen des Einschlußharzes erhält, aufgetragen wird. — Zur Fixierung von Diatomeen für Trockenpräparate ist Schellack nicht zu brauchen; man benutzt dann als Klebmittel für zarte und glatte Formen

[1]) E. Debes, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XI, 1894, S. 284.

[2]) H. v. Schoenfeldt, Zeitschr. f. angew. Mikrosk. u. Klin. Chemie, Bd. XII, 1906, S. 247.

sehr mit rektif. Alk. und Aq. dest. verdünntes, säurefreies Glyzerin, dem man für derbere und gebogene Formen etwas gut geklärtes Gummi arabicum hinzufügt. Sehr vorsichtig muß man aber solche Deckgläser trocknen, damit keine Bräunung des Klebmittels erfolge.

Die Deutlichkeit der Struktur der Diatomeenschale kann durch passende Einschlußmedien gehoben werden. Vor allem sind aber solche Einschlußmedien zu vermeiden, die annähernd denselben Brechungsindex wie die Kieselschalen ($^{n}D = 1{,}43$) aufweisen. Daher sind Kanadabalsam mit 1,517 Brechungsindex (vgl. S. 192) und auch Tolubalsam, aus dem die Zimmetsäure auch leicht auskristallisiert, auszuschließen. Anzuraten[1]) sind hingegen Medien mit höherem Brechungsindex, so Anisöl ($^{n}D = 1{,}557$) und Kassiaöl ($^{n}D = 1{,}607$), besonders aber die mit noch etwas höherem (vgl. S. 192), wie Styrax oder Liquidambar. Vornehmlich zu empfehlen ist das WITTsche, aus dem Styrax dargestellte Styresin[2]), von dunkelgelber Farbe, dem Kanadabalsam entsprechend, von demselben Brechungskoëffizienten, wie er für Styrax angegeben wird. Man wendet es in Terpentin gelöst an und behandelt es genau wie Kanadabalsam. Um ein Präparat herzustellen, bringt man mit der Pipette etwas von dem gereinigten, in Alkohol aufbewahrten Diatomeen-Material in ein Gläschen mit Aq. dest. Man schüttelt den Inhalt des Gläschens, damit das Material gleichmäßig verteilt wird, und überträgt mit der Pipette so viel von dieser Flüssigkeit auf das Deckglas, daß dieses von der Flüssigkeit gleichmäßig gedeckt werde. Das Deckglas trocknet langsam unter einer Glasglocke, wird dann von etwaigen Verunreinigungen unter dem Präpariermikroskop befreit und mit einem Tropfen der nicht zu dicken Harzmasse versehen; hat diese unter der Glocke zähflüssige Konsistenz erreicht, so wird das Deckglas ohne Druck aufgelegt. Die Objekte dürften bei solchen Verfahren gleichmäßig im Präparat verteilt sein. Es darf nicht mehr Harzmasse angewandt werden als nötig, damit sie nicht an den Deckglasrändern hervortrete; durch gelindes Erwärmen des Präparats wird eine gleichmäßige Verteilung dieser Masse und Austritt etwaiger Luftblasen erreicht. Ähnlich wie das Styresin kann auch das aus dem Styrax dargestellte Styraxöl, das ebenfalls einen sehr hohen Brechungsindex besitzt und zugleich farblos ist, verwandt werden. Solche Präparate muß man zukitten. — Weiter kommt wegen seines sehr hohen Brechungsindexes hier noch besonders Monobromnaphtalin in Betracht[3]). Der Verschluß wird dabei mit einem verdickten Kanadabalsam in Chloroform, oder zunächst mit geschmolzenem Wachs und dann erst mit dem Kanadabalsam vollzogen. Das Monobromnaphtalin zersetzt sich aber nicht selten nach einiger Zeit in den Präparaten. Haltbarer erscheint ein Gemisch von 3 T. Piperin und 2 T. Bromantimon (Brechungsindex ungefähr 1,7)[4]). Auch wird das sog. gelbe Medium[5]) empfohlen, Realgar (zweifach Schwefelarsen) gelöst in Bromarsen, eine zitrongelbe Masse vom Brechungsindex $^{n}D = 2{,}4$. Es muß zu seiner Darstellung völlig reines, am besten durch

---

[1]) Vgl. L. DIPPEL, Handb. d. allg. Mikrosk., 2. Aufl., S. 397, 698.

[2]) O. N. WITT, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. III, 1886, S. 205.

[3]) Vgl. J. W. STEPHENSON, Journ. of the Roy. Micr. Soc. London, Vol. III, No. 4, 1880; H. VAN HEURCK, Bull. d. séances d. l. Soc. Belg. d. Micr., 30. Juni 1883; L. DIPPEL, Bot. Zentralbl., Bd. XVI, 1883, S. 158.

[4]) H. VAN HEURCK, Ann. soc. Belg. de Microsc., Bd. XXVIII, 1907, S. 56.

[5]) H. L. SMITH, Amer. monthly Micr. Journ., Bd. VI, 1885, S. 161; Journ. Roy. Micr. Soc., Bd. VI, 1886, S. 902; H. VAN HEURCK, Bull. Soc. Belg. d. Micr., Bd. XIII, 1886—87, S. 20.

Sublimation gereinigtes Realgar dienen, das in der Hitze in völlig reinem Bromarsen gelöst wird. Diese Operation hat man mit größter Vorsicht vorzunehmen, da sie sehr giftige Produkte liefert. Die Masse ist in der Kälte zähflüssig, grünlichgelb; man fügt ihr, um sie haltbarer zu machen, etwa $^1/_6$ Schwefel zu und löst diesen vollständig auf. Die Masse wird nun durchscheinender; man benutzt sie wie Balsam. Man läßt die Diatomeen zunächst an dem Deckglas antrocknen und bedeckt sie mit einem Tropfen des Mediums. Der Tropfen wird unter Deckglas vorsichtig, doch stark erhitzt, so lange Gasblasen entweichen. Die Masse geht in Rot über, nach dem Erkalten wird sie hellgelb; das Deckglas haftet fest an. Ein sehr ähnliches, ebenso giftiges Medium von ebenfalls 2,4 Brechungsindex erhält man aus 10 T. Brom, 30 T. Schwefel und 13 T. fein pulverisiertem Arsen[1]. Um dieses Medium darzustellen, erwärmt man Brom und Schwefel in einem reinen, trockenen Reagenzglas, bis der Schwefel geschmolzen ist, fügt dann das metallische Arsen hinzu und erhitzt bis zur vollständigen Lösung. Dann gießt man die Masse in einen Porzellantiegel und erhitzt unter Umrühren weiter, bis ein erstarrender Tropfen sehr brüchig wird. Hierauf entleert man den Tiegel auf einen kalten Teller und bewahrt die erstarrten Stücke in einem Glas mit eingeschliffenem Stopfen. Die Masse ist glasartig, grünlichgelb. Für den Einschluß der Objekte muß sie auf dem Objektträger geschmolzen werden. Der Einschluß erfolgt ähnlich wie im vorausgegangenen Fall. Beim Erhitzen des Präparats entweichen Gasblasen, und der Brechungsindex steigt allmählich bis auf 2,4. — Auch ist ein Medium aus Zinnchlorid, arseniger Säure und Glyzerin[2] in Vorschlag gekommen. Es werden 6 T. Zinnchlorid und 2—2,5 T. arsenige Säure abgewogen. Man kocht das Zinnchlorid kurze Zeit im Reagenzglas und fügt in der Hitze eine gleiche Menge Glyzerin hinzu, erhitzt und schüttelt, bis eine klare Lösung entsteht. Zu dieser setzt man nun ganz langsam die arsenige Säure hinzu, schüttelt und erhitzt, bis alles gelöst ist. Das gibt nach dem Abkühlen eine klebrige Masse. Das Präparat wird unter Deckglas erwärmt, wobei zahlreiche Blasen sich bilden, die jedoch beim Abkühlen wieder schwinden. — Ein sehr stark lichtbrechendes Medium von fast Brechungsindex 2 erhält man, wenn man Bromantimon schmilzt und halb soviel Glyzerin zusetzt. Zu dieser Lösung fügt man langsam unter Schütteln in der Hitze arsenige Säure hinzu, so daß die Zusammensetzung schließlich ist: 2 T. Bromantimon, 1 T. Glyzerin, 0,75 T. arsenige Säure. Diese Masse ist in der Kälte beinahe fest und muß für die Benutzung erwärmt werden. — In Fällen, wo es nicht auf einen so hohen Brechungsindex ankommt, ließe sich das „weiße Medium" mit einem Brechungsindex von etwa 1,7 anwenden, das sich ganz unverändert in den Präparaten halten soll[3]. Man stellt es her, indem man sich zunächst eine dicke Glyzerin-Gelatine von Honig-Konsistenz durch Auflösen von heller Gelatine in erhitztem, reinem Glyzerin bereitet. In 8 ccm davon löst man hierauf in der Wärme 40 g reines Zinnchlorid. Die meist etwas milchige Lösung wird durch Kochen in

---

[1]) W. C. Meates, Journ. Roy. Micr. Soc., Bd. VI, 1886, S. 357; H. van Heurck, l. c., 1886—87.

[2]) H. L. Smith, l. c., 1886, S. 901. Die von Smith benutzten Medien z. T. zu haben bei *C. F. Booth*, of *Tarrant & Co.*, manufacturing chemists, New York.

[3]) H. L. Smith, Ebenda, Bd. VI, 1885, S. 161; auch Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. II, 1885, S. 566.

einem Reagenzglas schön klar und erhält die Farbe des Kanadabalsams, doch darf das Glas beim Kochen nicht über ein Viertel voll sein, da die Blasen zuletzt sehr groß werden, heftig aufsteigen und die Flüssigkeit leicht aus der Röhre stoßen können. Erkaltet zeigt sich die Masse dickflüssig wie dicker Balsam und soll auch bei Herstellung von Präparaten wie Balsam behandelt und erwärmt werden. Die Einschlußmasse ist hygroskopisch, daher ein Abschlußring nötig. Das über den Deckglasrand hinausgehende Medium entferne man zuvor mit einem Stückchen Löschpapier, das mit Wasser oder Salzsäure befeuchtet ist. Der Verschluß erfolgt am besten mit Wachs, auf das unter Umständen noch ein anderer Deckglaskitt aufgetragen wird. Für zu große Diatomeen ist dieses Medium ungeeignet: sie erscheinen in ihm fast schwarz. — Bemerkt sei endlich noch, daß die Einschlußmedien mit hohem Brechungsindex, die zum Deutlichmachen feinster Strukturverhältnisse an Diatomeenschalen benutzt werden, sich vielfach mit ebenso großem Vorteil anwenden lassen, um anderweitige Strukturverhältnisse, wie Schichtung und Streifung der Membranen (vgl. S. 192) u. dgl. m. schärfer hervortreten zu lassen. — Scharfe Zeichnungen von Diatomeen hat man auch erhalten, indem man sie versilberte. Dies geschieht mit Hilfe zweier Lösungen. Für die erste Lösung werden 10 T. Silbernitrat in 6,2 T. starkem Ammoniak gelöst, 50 T. Aq. dest. hinzugefügt, fixiert, und dann nochmals 800 T. Aq. dest. zugesetzt. Die zweite Lösung besteht aus 2,25 T. Weinsäure, die zuvor lange Zeit dem Licht ausgesetzt bleibt, und die man in 8,5 T. Aq. dest. löst. Diese zweite Lösung setzt man tropfenweise unter heftigem Schütteln der ersten zu, bis sich ein bleibender Niederschlag zu bilden beginnt. Ein Deckglas mit anhaftenden Diatomeenschalen wird hierauf in die Lösung gebracht und diese für 30 Min. auf den flachen Deckel eines mit kochendem Wasser gefüllten Gefäßes gestellt. Hiernach ist die Silberlösung durch neue zu ersetzen und nochmals bei derselben Temperatur mit der Einwirkung 30 Min. lang fortzufahren. Auf diese Weise ist eine hinreichend dicke Silberschicht auf dem Deckglas und den Diatomeen gebildet[1]).

Die unbestimmt geformten, faltigen, olivgrünen Gallertmassen, denen man so oft auf nassen Wegen begegnet, gehören einer Spaltalge (Cyanophycee), dem Nostoc commune VAUCH., an[2]). Von dieser können wir im Winter Trockenmaterial verwenden, das vor der Untersuchung in Wasser aufgeweicht worden ist. Bringen wir ein wenig von der Gallerte unter das Mikroskop, so finden wir sie durchsetzt von hin- und hergewundenen, rosenkranzförmigen Fäden (Fig. 181). Der Protoplast jeder der tonnenförmigen Zellen, aus denen diese Fäden bestehen, besitzt ein peripher gelagertes Chromatoplasma, das außer Chlorophyll auch einen blaugrünen Farbstoff, das Phykozyan, in kleinen, mehr oder weniger dicht gelagerten Grana enthält und ein ungefärbtes, verschiedenartige Einschlüsse enthaltendes Zentroplasma[3]). Letzteres, der sog. „Zentralkörper", wurde verschiedentlich als Zellkern gedeutet. Von einem Kern höher organisierter

[1]) Nach H. VAN HEURCK, Engl. Mech., Bd. XIII, S. 548; Journ. of the Roy., Micr. Soc., Bd. VI, S. 900.

[2]) Vgl. G. THURET et E. BORNET, Notes algologiques, II, 1878, S. 102.

[3]) Vgl. O. BAUMGÄRTEL, Arch. f. Protistenkunde, Bd. XLI, 1920, S. 50 ff., und L. GEITLER, Sitzber. d. Akad. d. Wiss., Wien, Math.-Nat. Kl., Abt. I, Bd. CXXX, 1921, S. 223 ff.

Pflanzen unterscheidet er sich u. a. durch seine mangelhafte Abgrenzung gegen das umgebende Zytoplasma; bei seiner Teilung weist er aber Strukturen auf, die an Kernteilungsbilder erinnern[1]). Stets trifft man viele Zellen in Teilung an. Sie sind länger und zeigen in ihrer Mitte eine schwache Einschnürung (bei *a*). Auf diese ringförmige Einschnürung folgt, von außen nach innen fortschreitend, die Bildung einer Scheidewand (bei *b*). Die Wandungen der Zellen sind sehr zart; durch fortgesetzte Verquellung ihrer Außenschichten entsteht eine farblose, homogene Gallerte, in der die Fäden eingebettet liegen. Im Verlauf der Fäden sind einzelne, größere, kugelrunde Zellen (*h*) eingeschaltet, die sog. Grenzzellen oder Heterozysten[2]), die eine dickere, aus einer äußeren Pektin- und einer inneren Zelluloseschicht bestehende Wand besitzen und einen homogenen, bräunlichgelb gefärbten Inhalt führen, der in jüngeren Entwicklungsstadien mit dem der benachbarten Zellen durch je einen feinen Porus in Verbindung steht[3]). In den älteren Heterozysten findet sich an den Ansatzstellen der angrenzenden Zellen im Innern vor jedem Porus je ein polares Körnchen als Verschlußkörper[4]). Die Heterozysten sind neuerdings als Fortpflanzungsorgane gedeutet worden, die im Laufe der Entwicklung ihre Funktion verloren haben, unter Umständen aber diese wiedergewinnen und zu normalen vegetativen Fäden auskeimen können. Dabei ergrünt der gelbliche Inhalt und die als Schutz und Reservestoff dienende Zelluloseschicht wird aufgebraucht[5]).

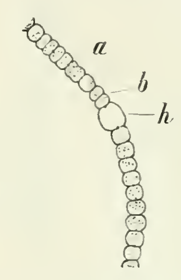


Fig. 181. Nostoc. Stück eines Fadens. *h* Heterozyste; *a* und *b* Zellen in Teilung. Vergr. 540.

Wir wollen noch eine zweite Nostocacee ins Auge fassen, die wegen ihres symbiotischen Verhältnisses zu einer anderen Pflanze für uns von Interesse ist. Diese andere Pflanze ist die in allen botanischen Gärten kultivierte Azolla caroliniana. So sind wir denn auch in der Lage, da die Azolla in Gewächshäusern überwintert, uns jederzeit Untersuchungsmaterial von dieser Nostocacee zu beschaffen. Die Nostocaceen neigen überhaupt sehr zur Symbiose, und wir finden sie in sehr verschiedenen Pflanzen, vornehmlich aber als Bestandteile des Flechtenkörpers vor. Die in der Azolla lebende Anabaena Azollae ist an bestimmten Stellen dieses

---

[1]) Vgl. hierzu die Arbeiten von R. HEGLER, ALFR. FISCHER, E. ZACHARIAS, F. KOHL, J. MASSART, E. W. OLIVE, A. GUILLIERMOND u. a. m., in denen auch die verschiedenartigen Präparationsmethoden nachzusehen sind. Eine Zusammenstellung der früheren und neueren Literatur findet sich bei E. ZACHARIAS, Bot Ztg., LXV. Jahrg., 1907, Sp. 265, ferner bei O. BAUMGÄRTEL, l. c., 1920.

[2]) Heterozysten galten allgemein als nicht teilungsfähig; F. BRAND, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XIX, 1901, S. 153, ferner Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. XV, 1903, S. 44, bestreitet jedoch die allgemeine Gültigkeit dieser Annahme. Vgl. a. L. GEITLER, l. c., 1921.

[3]) Sie lassen sich mittels der von H. MOLISCH zum Karotinnachweis empfohlenen Kalimethode (s. Reg. IV) und anschließender 2-stünd. Behandlung mit konz. wässriger Eosinlösung sichtbar machen, wobei die die Pori der Heterozysten durchsetzenden Plasmafäden in rosa Farbe hervortreten.

[4]) Vgl. dazu L. GEITLER, l. c., 1921, S. 233.

[5]) Vgl. dazu L. GEITLER, l. c., 1921, S. 234 ff.

Wasserfarns zu finden[1]. Die Blätter der Azolla sind in je zwei Lappen getrennt. Der obere Lappen ist fleischig und schwimmt auf dem Wasser, der untere ist häutig und untergetaucht. Der obere Lappen zeigt im Innern eine weite Höhlung, in die eine auf der Innenfläche des Blattes befindliche, enge Öffnung führt. Diese Höhlung ist mit Anabaena erfüllt, und von den Wänden der Höhlung aus wachsen verzweigte Haare zwischen die Windungen dieser Anabaena hinein. Um nun die Anabaena für unsere Untersuchung zu erhalten, zerzupfen wir die Oberlappen einiger Blätter mit den Nadeln, legen ein Deckglas auf, drücken ein wenig darauf und finden nun ziemlich sicher die Anabaena-Schnüre. Wir betrachten die Schnüre bei möglichst starker Vergrößerung (Fig. 182) und stellen an ihnen im wesentlichen den nämlichen Bau fest, der uns an Nostoc commune entgegentrat. Die Reihen der tonnenförmigen Zellen werden auch hier von Zeit zu Zeit von einer größeren, ellipsoidischen bis kugeligen Zelle, der Heterozyste, unterbrochen, in die an den Ansatzstellen kleine, stärker lichtbrechende Höcker vorspringen. Die Fäden sind schlangenförmig hin und her gewunden, ohne sichtbare Gallerte. Der Inhalt der vegetativen Zellen ist spangrün, jener der Grenzzellen olivgrün gefärbt. Meist findet man einzelne Zellen in Teilung (Fig. 182 *a*—*d*). — Nimmt man einen Zweig der Azolla zwischen die Finger und führt Längsschnitte durch ihn, so wird man unter dem Mikroskop nicht selten die Anabaena in ihrer natürlichen Lage innerhalb einer Blatthöhle sehen können. Doch muß der Zufall gefügt haben, daß man eine Blatthöhle richtig traf. Das pflegt meist zu geschehen, und dann sieht man auch die gegliederten Haare, welche die Anabaenen durchsetzen.



Fig. 182. Anabaena Azollae, *a* bis *d* aufeinanderfolgende Zustände der Teilung vegetativer Zellen, *h* eine Grenzzelle. Vergr. 540.

Durch stickstoffbindende Bakterien, die den Nostocfäden anhaften, sind diese in den Stand gesetzt, sich auch in stickstoffreier Nährlösung im Licht zu entwickeln[2]. Sie gedeihen kräftig, und zwar auch bei unzureichendem Lichtzutritt, in einer mineralischen Nährlösung, der man Glykose zusetzte. Statt Glykose kann mit gleichem Erfolg auch Saccharose, Maltose und Stärke der Nährlösung hinzugefügt werden, während durch Laktose ein nur geringer fördernder Einfluß auf das Wachstum, durch Lävulose auch dieser nicht mal zu erreichen ist. Auch bakterienfreie Reinkulturen lassen sich von Cyanophyceen erzielen, und zwar am besten auf festen Nährböden, wie Agar mit und ohne Zugabe organischer oder anorganischer Nährstoffe, ferner auf Kieselgallerte, in die man eine Mineralsalzlösung hinein diffundieren läßt, also auf einem rein anorganischen Substrat[3].

---

[1]) Über die Beziehungen zwischen Anabaena und Azolla s. A. Oes, Zeitschr. f. Bot., Bd. V, 1913, S. 145 ff.; vgl. dazu R. Harder, Ebenda, Bd. IX, 1917, S. 153.

[2]) B. Bouilhac, Compt. rend. Acad. Paris, T. CXXXIII, 1901, S. 55.

[3]) Vgl. u. a.: E. G. Pringsheim, Beitr. z. Biolog. d. Pfl., Bd. XII, 1914, S. 1 ff.; R. Harder, Zeitschr. f. Bot., Bd. IX, 1917, S. 145 ff.; s. a. Reg. IV Agar und Kieselgallerte.

Überall in stehenden Gewässern, auch auf schlammigem Boden, selbst auf Blumentöpfen, in den Gewächshäusern begegnet man den Schwingfäden, Oscillarien, die wie die Nostocaceen zu den Spaltalgen gehören. Ihre Anwesenheit verrät sich oft durch unangenehmen, modrigen Geruch. In Gefäßen kultiviert, kriechen sie z. T. an den Wänden über den Wasserspiegel empor. Es sind mehr oder weniger gerade oder auch gewundene Fäden, die blaugrün, spangrün, olivgrün bis braun gefärbt sein können und oft durch lebhafte Beweglichkeit sich auszeichnen. Die Fäden sind frei oder in Gallertscheiden eingeschlossen. Sie können einzeln oder in Mehrzahl in solchen Scheiden stecken. Die Scheiden gehen aus den äußeren Membranschichten der Fäden hervor. Wo diese Schichten verflüssigt werden, fehlen die Scheiden. Die Fäden sind durch quere Scheidewände in kurze, scheibenförmige Zellen geteilt. Die Scheidewände lassen sich bei vielen Arten sehr leicht, bei anderen nur schwer unterscheiden. Der Inhalt der Zellen entspricht im wesentlichen dem von Nostoc. — Es ist gleichgültig, welche Art zur Untersuchung gewählt wird; doch geben wir den dickeren, mit deutlicheren Scheidewänden versehenen Formen, wie sie in Fig. 183 dargestellt sind, den Vorzug. Durch entsprechende Behandlung lassen sich bei diesen Oscillarien die Zentralkörper unschwer und rasch zur Anschauung bringen. Wir waschen die Fäden zunächst in Wasser aus, um sie von etwaigen Verunreinigungen zu befreien. Dann übertragen wir sie in 1-proz. Chromsäurelösung, die wir 5 Min. lang einwirken lassen. Hierauf waschen wir sie wieder in Wasser aus und lassen etwa 3 Min. lang eine konz. wässrige Löung von 4 T. Methylenblau und 1 T. Eosin auf sie einwirken. Die mit Wasser abgespülten Fäden untersuchen wir hierauf in Wasser. Wir können sie auch auf dem Objektträger eintrocknen lassen und, nachdem sie völlig lufttrocken geworden, Kanadabalsam auftropfen und uns so ein brauchbares Dauerpräparat herstellen. Ein so fixierter und gefärbter Oscillariafaden bietet uns dann ein Bild, wie das in Fig. 183 *A*, *b* dargestellte. Die Zentralkörper sind blau, das Zytoplasma rosenrot gefärbt. Einzelne Zellen (*t*) sind in Teilung begriffen; sie zeigen auch den

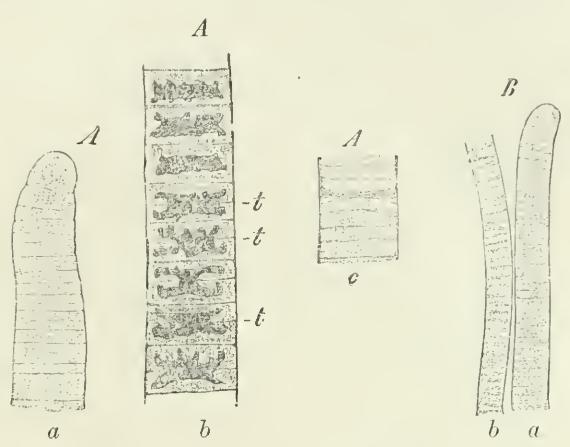


Fig. 183. *A* Oscillaria princeps, *B* Oscillaria Froelichii. *a* Fadenenden, *b* Stücke aus den inneren Teilen des Fadens, *t* Zellen in Teilung, bei *B*, *b* die Körnchen vornehmlich an den Querwänden angesammelt; in *A*, *c* ist eine abgestorbene Zelle zwischen den lebenden zu sehen. Das Fadenstück *A*, *b* nach Fixierung in Chromsäure und Färbung mit Methylenblau-Eosin, die anderen Fadenstücke nach lebenden Exemplaren. Vergr. von *A*, *a* und *B* 1080, von *A*, *b* und *c* ca. 2200.

sich teilenden Zentralkörper und die zwischen seine Teilhälften vordringende Scheidewand (andere Präparationsmethoden s. S. 449, 450).

Eine relativ dicke Form ist Oscillaria princeps VAUCH., die blaugrüne, schwarzgrüne, auch olivenfarbene Lager bildet (Fig. 183 *A*). Die Fäden erreichen bedeutende Länge und eine Dicke von 0,015—0,03 mm, unter Umständen auch wohl darüber. Diese Maße gewinnen wir nach der uns bereits bekannten Methode (vgl. S. 143, 144), indem wir das Objekt mit der Kamera möglichst genau zeichnen, mit gewöhnlichem Maßstab messen und in die gewonnenen Zahlen mit der uns für genau die nämliche Entfernung bekannten Vergrößerung des Bildes dividieren. Wir können übrigens, wenn wir wollen, diese Bestimmung noch vereinfachen, indem wir nämlich für jede an unserem Instrument mögliche Kombination von Objektiven und Okularen einen besonderen Maßstab herstellen. Wir benutzen hierzu unser Objekt-Mikrometer, dessen Teilstriche wir uns mit der Kamera genau in der Entfernung, in der wir immer zeichnen, entwerfen und die wir uns, je nach der Stärke der Vergrößerung, in 0,1, 0,01 oder 0,001 mm, ja selbst in noch kleinere Unterabteilungen zerlegen. Diesen Maßstab führen wir auf möglichst durchsichtigem Durchpauspapier aus und brauchen ihn dann nur auf eine bei derselben Vergrößerung ausgeführte Zeichnung zu legen, um deren Maße direkt abzulesen.

Die von uns untersuchten Oscillaria-Fäden zeigen sich an ihren Enden, soweit diese nicht etwa erst kürzlich durch Zerfall eines Fadens neu entstanden sind, etwas verjüngt; die Endzelle ist frei abgerundet (Fig. 183 *A*, *a*), das ganze Ende meist ein wenig gekrümmt. Die Außenwände der Zellen lassen nach bestimmter Behandlung Netzstruktur erkennen[1]). Diese weisen besonders solche Fäden auf, die man nacheinander mit Pepsin-Glyzerin-Salzsäure, Chromsäure und 2-proz. Kalilauge behandelte und dann mit Karbolfuchsin färbte. Die Maschen sind in zwei sich kreuzenden, schräg ansteigenden Reihen geordnet. Dem Inhalt der Zellen zeigen sich kleine Körnchen gleichmäßig eingestreut; sie werden besonders deutlich nach Zusatz von 1-proz. Chromsäure (*A*, *b*). Bei dieser Art ist kaum eine Ansammlung von Körnchen an den Scheidewänden zu finden, wohl aber häufig bei einer anderen Art, der man öfters mit der vorigen zugleich begegnen wird, bei der um die Hälfte dünneren Oscillaria Froelichii KG. Diese bildet stahlblaue, grüne bis olivenfarbene Lager; manche Formen weisen unter dem Mikroskop rein blauen Inhalt auf. Das Ende des Fadens ist kaum verjüngt (*B*, *a*); die Körnchen entweder gleichmäßig verteilt (*B*, *a*) oder an den Scheidewänden besonders angesammelt (*B*, *b*). Die Fäden zerfallen leicht in Abschnitte, und zwar einfach dadurch, daß sich zwei angrenzende Zellen gegeneinander abrunden und voneinander trennen. Die äußere Wandung reißt an dieser oder einer nahe benachbarten Stelle, und die Fadenstücke rücken fort. Hin und wieder befreien sich auch die so gebildeten Teilstücke völlig von der äußeren Membran und kriechen aus ihr, sie als Scheide zurücklassend, hervor. Die Trennung eines Fadens in Abschnitte wird öfters veranlaßt durch das Absterben einzelner Zellen, bzw. selbst größerer Zellkomplexe im Faden. Wo, wie dies gewöhnlich der Fall, nur eine Zelle abstirbt, bildet sie eine in gleicher Farbe wie der übrige Faden gefärbte, doch stärker lichtbrechende Scheibe in ihm (*A*, *c*). Gegen diese Scheibe wölben sich die angrenzenden Zellen vor; die Scheibe

[1]) C. CORRENS, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XV, 1897, S. 139.

ähnelt schließlich einer bikonkaven Linse (Konkavzellen, Nekriden)[1]. Nach der an dieser Stelle erfolgten Trennung bleibt die Scheibe meist an dem einen Fadenende haften, um jedoch alsbald von ihm abgestoßen zu werden. Weniger charakteristisch ist die Trennung beim Absterben größerer Zellkomplexe. Neu entstandene Enden an den Fäden verjüngen sich und runden sich erst infolge weiterer Entwicklung ab. Die Fäden wachsen kräftig an der Spitze, aber auch interkalar in ihrer ganzen Länge, wie wir denn aus der verschiedenen Stärke der Scheidewände auf ihr verschiedenes Alter schließen können.

Sehr eigen sind die Bewegungserscheinungen, die uns gleich bei Beginn jeder Untersuchung an den lebenden Oscillarien auffallen müssen[2]. Namentlich an den dickeren Formen mit etwas gekrümmter Spitze werden wir bei hinreichend starker Vergrößerung die Erscheinung richtig beurteilen können. Wir stellen dann nämlich fest, daß mit der Bewegung der Fäden eine langsame Drehung um ihre Achse verbunden ist. Gleichzeitig führen die Fäden unregelmäßige Krümmungen, „Nutationen", aus, die aber nicht spontan sind, sondern den Fäden durch Ankleben am Substrat aufgenötigt werden. Die Krümmungen spielen sich meist langsam ab, können aber auch zu heftigen Bewegungen Anlaß geben, wenn nämlich ein besonders starker Widerstand den baldigen Ausgleich der Krümmung verhinderte.

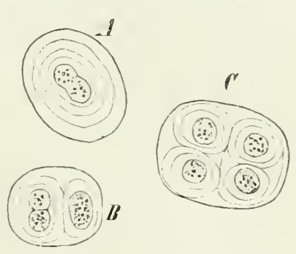


Fig. 184. Gloeocapsa polydermatica. Bei *A* zu Beginn der Teilung, in *B* links kurz nach der Teilung. *C* späteres Ruhestadium. Vergr. 540.

In dieselbe Klasse von Organismen, wie die Nostocaceen und Oscillarien gehören die noch einfacher gebauten Chroococcaceen, die wir an einer der vielverbreiteten Gloeocapsa-Arten studieren wollen. Wir wählen die auf feuchten Mauern oder Felsen wachsende Gloeocapsa polydermatica (Fig. 184), die an ihrem schmutziggrünen bis olivgrünen, gallertartigen Lager kenntlich ist. Unter dem Mikroskop zeigen sich diese Lager von Gallertmassen gebildet, die durch zarte Zellhäute voneinander getrennt sind und so eine ausgeprägte Schichtung erlangen. Eine andere Art mit weniger deutlich geschichteter Gallerthülle kann aber auch zur Untersuchung dienen. Innerhalb der Gallerthüllen sehen wir anscheinend gleichmäßig gefärbte, mehr oder weniger deutlich körnige Zellen. Durch den Mangel einer sichtbaren Differenzierung im Zelleib unterscheiden sich die Chroococcaceen von den ihnen äußerlich oft sehr ähnlichen Protococcaceen und Palmellaceen. — Bei Gloeocapsa polydermatica sind die kurz zuvor durch Teilung gebildeten Zellkörper fast kugelrund (Fig. 184 *C*). Hierauf beginnen sie in die Länge zu wachsen und werden ellipsoidisch. Dann zeigen sie in mittlerer Länge eine schwache,

[1]) Näheres darüber bei F. Brand, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXIII, 1905, S. 62. Dort auch die ältere Literatur.

[2]) Vgl. hierzu u. a. R. Kolkwitz, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XIV, 1896, S. 422, und 1897, S. 460; C. Correns, l. c., 1897, S. 141; F. Brand, l. c., 1903, S. 53; O. Phillips, Contrib. Bot. Labor., Univ. of Pennsylvania, Bd. II, 1904; G. Schmid, Flora, Bd. CXI—CXII, 1918, S. 327ff., und Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LX, 1921, S. 572ff.

bisquitförmige Einschnürung (*A*), worauf eine zarte Scheidewand an jener Stelle sichtbar wird. Gleichzeitig mit deren Bildung haben sich die jungen Zellen auch im übrigen Umfang mit einer dünnen Zellhaut umgeben. Hierauf entsteht an beiden eine ziemlich starke Gallertschicht, wodurch sie voneinander entfernt werden. Dünne Zellhäute und dickere Gallertschichten folgen so abwechselnd aufeinander[1]). Während neue Schichten im Innern hinzukommen, werden die älteren gedehnt, endlich gesprengt und abgestreift[2]). Eine große Anzahl von Generationen ist somit zu einer gemeinsamen Zellfamilie durch die Zellhäute und Gallertschichten verbunden. Durch Sprengung der äußeren Hüllen zerfallen die Familien. Seltener findet man einzelne für sich bestehende Zellen, und zwar dann meist von einer großen Schichtenzahl umgeben (Fig. 184 *A*). Es unterblieb in solchen Fällen die Zellteilung, nicht die Verdickung. Überhaupt werden wir bei aufmerksamer Betrachtung feststellen können, daß die Zahl der sich durch stärkere Lichtbrechung in jeder Zellfamilie markierenden, dünnen Zellhäute der Zahl der im Gewebe eingeschlossenen Zellgenerationen häufig nicht entspricht. Meist freilich wird die Bildung einer solchen Zellhaut nur bei der Teilung erfolgen, doch können auch zwischen zwei Teilungsschritten zwei und mehr Zellhäute den Gallertschichten eingeschaltet werden. Je nachdem eine Zellhaut oder eine Gallertschicht in Bildung begriffen ist, grenzt diese oder jene an den Zellkörper. Die Teilung der Zellen erfolgt vorwiegend in sich rechtwinklig schneidenden Ebenen. Die Körnchen im Inhalt der Zellen sieht man bei starker Vergrößerung auch ohne Zuhilfenahme von Reagentien; einzelne Körner zeichnen sich oft durch bedeutendere Größe aus. Die auf fortgesetzter Zweiteilung der Zellen beruhende vegetative Vermehrung dieser Organismen hat ihnen den Namen Spaltalgen, Schizophyceen, verschafft. Sie werden auch als Cyanophyceen wegen ihres blaugrünen oder spangrünen Farbstoffes, des Phykozyans (s. Reg. IV), zusammengefaßt, endlich auch als Phycochromaceen.

Nach den Untersuchungen von Lemaire[3]) besitzt eine Anzahl Spaltalgen sehr einfach zusammengesetzte Scheiden. Diese bestehen, ebenso wie die Gallerthüllen, aus einer Substanz, die sich den Pektinverbindungen in den Membranen der Phanerogamen ähnlich verhält. Komplizierter ist die Scheide bei anderen Spaltalgen zusammengesetzt. In ihr findet sich eine saure Verbindung mit einer anderen organischen Substanz, die wie eine Base reagiert, vereinigt vor. Dieser komplizierte Stoff wird Schizophykose genannt. Schizophykose läßt sich in den Scheiden anderer Spaltalgen noch mit Zellulose verbunden vorfinden. In den Wänden der Heterozysten ist verschiedentlich Zellulose nachgewiesen worden. Chitin findet sich entgegen früheren Angaben in den Membranen der Cyanophyceen nicht[4]).

Die neueren Studien über den Zellinhalt der Cyanophyceen lassen die Annahme zu, daß der Protoplast (vgl. S. 442) aus einem peripheren, früher

[1]) G. Klebs, Arbeiten d. bot. Instituts in Tübingen, Bd. II, 1887, S. 396.

[2]) F. Schmitz, Sitzber. Niederrhein. Gesellsch., Dez. 1880, Sep.-Abdr. S. 7.

[3]) A. Lemaire, Journ. de Bot., Bd. XV, 1901, S. 255.

[4]) Nach G. Klein, Anz. K. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl., Bd. LII, 1915, S. 246 und C. Cihlar, Mitt. Kroat. naturw. Ver. Agram, Bd. XXVIII, 1916.

als Chromatophor gedeuteten, die für die betreffende Cyanophycee charakteristischen Farbstoffe enthaltenden Chromatoplasma besteht, dem nach innen ein verschiedene farblose Einschlüsse führendes helles Zentroplasma, früher Zentralkörper genannt, folgt. Die Einschlüsse stellen allem Anschein nach verschiedene Proteïnsubstanzen dar, sind in ihrer chemischen Natur aber noch nicht vollkommen klar gestellt, weshalb sie ihrer Lagerung im Zentroplasma zufolge als Epi-, Endo- und Ectoplasten bezeichnet wurden[1]). Den im innersten Teil liegenden Endoplasten, die von flüssiger bis steifgeliger Beschaffenheit sein können und die Hauptmasse des „Zentralkörpers" ausmachen, sind die Epiplasten angelagert. Diesen Epiplasten, welche den meist als Zentralkörnern[2]) bezeichneten, durch ihre leichte Tingierbarkeit mit Methylenblau auffallenden Einschlüssen entsprechen, liegen peripher die Ectoplasten, bisher Cyanophycinkörner benannte Gebilde, an. Diese lassen sich mit SCHNEIDERschem Essigkarmin[3]) sehr schön färben, ebenfalls im lebenden Zustand mit Brillantblau, jedoch nicht mit Methylenblau[4]).

Zur Erlangung besserer Anhaltspunkte über die Natur des früher als Chromatophor der Spaltalgen gedeuteten Chromatoplasmas wandte A. FISCHER[5]) die Isolierungsmethode mit Flußsäure an, ein Verfahren, das auch bei gleichgerichteten Untersuchungen bei anderen Pflanzen (Algen, Moose) gute Dienste leistet. Es wird dabei ein Platintiegel mit 30—45-proz., am besten 40-proz. Flußsäure auf einen hohen Dreifuß gebracht und daneben eine Bunsenflamme bereit gehalten. Die zu prüfenden Algen sind nun vorsichtig durch Auftupfen auf Fließpapier von der anhaftenden Feuchtigkeit zu befreien und dann in die Säure zu bringen. Nach Auflegen des Deckels erwärmt man vorsichtig, indem man mit der großen Flamme in regelmäßigen Zwischenräumen unter dem Tiegel herfährt, bis drei, vier oder fünf kurze Aufstöße in der Flüssigkeit hörbar gewesen sind. Dann nimmt man sofort mittels Platindrahts oder geeigneter Pinzette die Algen heraus und wäscht sie in einer großen Schale Wasser vorsichtig und gut mindestens mehrere Std., besser noch einen ganzen Tag lang aus. In den Präparaten zeigt sich alles gelöst bis auf die Zellwand und das anscheinend durch den Chlorophyllfarbstoff geschützte Stroma des Chromatoplasmas, das man leicht in einer 1- oder 2-proz. wässr. Lösung von Lichtgrün in 2 bis 4 Std. färben kann. Es färben sich dabei, wenn auch schwach, die Zellwände; deren Färbung schwindet aber bei der nun folgenden allmählichen Entwässerung in Alkoholen von steigender Konzentration. Es folgt Überführung in Alkohol-Xylol, dann Xylol, schließlich Kanadabalsam. Statt Lichtgrün läßt sich auch Säurefuchsin oder Gentianaviolett u. a. m. verwenden.

Um die vielfach als Kerne gedeuteten „Zentralkörper" (Zentroplasma) der Cyanophyceen und ihre Teilungsstadien zur Anschauung zu bringen, sind außer dem schon auf S. 445 angegebenen noch andere Mittel

---

[1]) O. BAUMGÄRTEL, Archiv f. Protistenkunde, Bd. XLI, 1920, S. 50 ff. und L. GEITLER, Sitzber. d. Akad. d. Wiss. Wien, math.-nat. Kl., Bd. CXXX, 1921, S. 232. Betr. der mutmaßlichen chemischen Verschiedenheit der einzelnen Plasten vgl. bes. O. BAUMGÄRTEL, l. c. S. 106 ff.

[2]) Nach A. MEYER, Bot. Zeitg., LXII. Jahrg., 1904, S. 135, bestehen die Zentralkörner aus dem bei den Kryptogamen weit verbreiteten Volutin, vgl. darüber Reg. IV.

[3]) Über seine Herstellungsweise s. Reg. IV, Karmin-Essigsäure. Vgl. im übrigen E. ZACHARIAS, Jahrb. d. Hamburg. wiss. Anst., XXI, 3. Beiheft, 1903, S. 59 und A. FISCHER, Bot. Ztg., LXIII. Jahrg., 1905, S. 113.

[4]) Vgl. die Zusammenstelluug bei A. MEYER, Analyse der Zelle, Jena 1920, S. 102.

[5]) A. FISCHER, l. c. 1905, S. 56.

empfohlen worden[1]). HEGLER[2]) fixierte beispielsweise mit Schwefligsäure-Alkohol: 7 T. einer gesätt. wässr. Lösung von schwefliger Säure, vor dem Gebrauch mit 93 T. 94-proz. Alkohol gemischt. Hierin bleiben die Objekte 12—24 Std.; dann werden sie mit Alkohol ausgewaschen. Wenn die Fäden viel Kalk enthalten, so muß das Auswaschen mit fließendem Wasser erfolgen; zuweilen ist alsdann die Fixierung mit einem Schwefligsäure-Wassergemisch (5 T. gesätt. Lösung von Schwefligsäureanhydrit und 95 T. Aq. dest.) vorzuziehen. Oder man wendet Formalin-Alkohol an, bestehend aus 5 T. 40-proz. Formalin und 95 T. 94-proz. Alkohol; ausgewaschen wird mit 50-proz. Alkohol. Die erste Methode soll besonders scharfe Teilungsbilder ergeben. Nach dem Auswaschen kommen die Objekte in reinen Alk. abs., dann in Anilin oder Bergamottöl, schließlich in Xylol, Xylol-Paraffin und reines Paraffin, worauf sie in Mikrotomschnitte von 3—5 μ zerlegt werden. Auch liefern Quetschpräparate erwünschte Resultate. Diese werden aus fixiertem, in Alkohol befindlichem Material gewonnen, wobei man den Alkohol mit ausgekochtem Aq. dest. auf dem Filter auswäscht und dann stecknadelkopfgroße Stückchen des Materials mit einem kleinen Tröpfchen ausgekochten Aq. dest. auf ein ganz reines Deckgläschen bringt, es mit einem zweiten bedeckt und leicht quetscht, bis die Fäden sich gleichmäßig auseinander gelegt haben. Die so beschickten Deckglaspaare werden in einer Schale aufeinander gelegt, mit einem kleinen Gewicht beschwert und einen Tag mit 50-proz., dann mit 75-proz. und 94-proz. Alkohol behandelt. Nach einigen Tagen sind die Fäden an den Deckgläschen festgeklebt, worauf jedes Deckglaspaar mit einer Lanzettnadel getrennt wird, um in ein Gemisch von 2 T. Alk. abs., 1 T. Glyzerin und 1 T. Wasser zu gelangen und dort aufbewahrt zu werden. Von Chroococcus und Merismopoedia lassen sich Präparate durch Antrocknenlassen dieses Materials auf Deckgläsern gewinnen. Die Färbung der mit Schwefligsäure-Alkohol fixierten Objekte hat in folgender Weise zu erfolgen. Man löst 75 T. kristall. Ammoniakalaun in 750 T. Wasser und fügt dann eine Mischung von 125 T. Glyzerin, 100 T. Alkohol und 25 T. einer gesätt., alkohol. Hämatoxylinlösung hinzu. 10 T. einer solchen Lösung, die mehrere Wochen an Luft und Licht gereift hat, sind hierauf mit 100 bis 200 T. einer 1-proz. wässr. Formalinlösung zu versetzen. In dieser frisch bereiteten Mischung bleiben die Objekte 24 Std. lang. Dann werden sie in fließendem Leitungswasser mindestens 1 Std. lang ausgewaschen und mit einer Pikrinsäurelösung differenziert, die aus einem Gemisch von 1 T. gesätt., alkohol. Pikrinsäurelösung, 1 T. Wasser und 2 T. 94-proz. Alkohol besteht. Nach wenigen Sek. ist in der Regel der gewünschte Grad der Differenzierung erreicht; die Kontrolle hierüber erfolgt nach Abspülen in 75-proz. Alkohol unter dem Mikroskop. Zu stark entfärbte Präparate müssen mit Ammoniumkarbonatlösung (0,1 % in 30 T. Alkohol) verbessert werden. Zur Differenzierung kann man auch 0,1-proz. Salzsäurelösung mit 60-proz. Alkohol verwenden. Die Präparate erscheinen nach der Differenzierung rötlich; bei einem mindestens 1 Std. langen Aufenthalt in fließendem Wasser kehren sie wieder zur blauen Farbe zurück. Durch 50-, 75-, 94-proz. Alkohol, Alk. abs., Toluol werden die Präparate in Toluol-

[1]) U. a. R. HEGLER, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXVI, 1901, S. 321 ff.; F. G. KOHL, Über die Organisation und Physiologie der Cyanophyceenzelle, Jena, 1903, S. 202 ff.; A. FISCHER, l. c. 1905, S. 69.

[2]) R. HEGLER, l. c. 1901, S. 322.

Dammar überführt. — Oder es werden die mit Schwefligsäure-Alkohol fixierten Objekte zunächst 2—4 Std. in 1,5-proz. Eisenammonalaunlösung gebeizt, dann direkt ohne Abspülen in Formhämatoxylinlösung (1 g krist. Hämatoxylin, 200 ccm Aq. dest., 4 ccm Formalin) übergeführt, worin sie mindestens 24 Std. bleiben. Ihr Auswaschen erfolgt 1 Std. lang in fließendem Leitungswasser. Der auf dem Deckglas entstandene Niederschlag wird durch mehrmaliges Eintauchen in 0,1-proz. Salzsäure-Alkohol entfernt. Man differenziert mit 0,5-proz. Eisenammonalaunlösung oder direkt mit dem Salzsäure-Alkohol oder Pikrinsäure-Alkohol. Dann folgt abermaliges Waschen mit Leitungswasser und Überführen in Toluol-Dammar in der zuvor angegebenen Weise. — Auch Lebendfärbung, so mit $^1/_{100\,000}$ bis $^1/_{10\,000}$ Methylenblau ergab gute Resultate. Sie stellte sich je nach den Arten schon nach 1 Std. oder nach 24 Std. ein. Werden so gefärbte Objekte hierauf mindestens $^1/_2$ Std. lang mit wässr. pikrinsaurem Ammon von $^1/_{200}$ behandelt, mit Wasser ausgewaschen und in $^1/_2$ Formol eingebettet, so hält die Färbung, wenn auch mit Änderung des Tons, längere Zeit[1]).

Um das Glykogen in der Cyanophyceenzelle nachzuweisen, erhitzt man das Untersuchungsmaterial auf dem Objektträger eben bis zum Kochen und setzt eine verd. Jodlösung (0,7 T. Jod, 2 T. Jodkalium in 300 T. Wasser) zu. Es tritt dann sofort eine tief mahagonibraune bis schwarzbraune Färbung der Glykogen-führenden Partien ein[2]). Handelt es sich um genauere Feststellung der Lokalisation des Glykogens im Zellinhalt, so verwende man die von Fischer empfohlene Tannin-Safraninfärbung[3]), die sich auch im Gegensatz zu der Jodreaktion in Dauerpräparaten hält. Man fixiere das Material mit Alkohol und bette in der üblichen Weise in Paraffin ein, überführe die Mikrotomschnitte nach Entfernen des Paraffins durch Xylol in Alkohol, bringe sie auf 5—10 Min. in 10-proz. Tannin, wodurch das Glykogen gefällt wird, spüle mit 1-proz. Kaliumbichromat ab und überführe auf 5—10 Min. in 10-proz. Kaliumbichromat. Jetzt ist die Glykogentanninfällung soweit unlöslich geworden, daß man mit Wasser abspülen und mit wässr. Anilinfarblösungen färben kann. Als Farbmittel verwende man Safranin-Anilinwasser, das 10 Min. einwirken muß, dann mit Wasser abzuspülen ist, worauf in Alkohol entwässert und über Xylol in Kanadabalsam eingebettet wird. In den Präparaten treten die Glykogenmassen leuchtend rot gefärbt aus den leicht gelblich-rötlich getönten plasmatischen Zellbestandteilen hervor. Die Färbung der Präparate hält sich anscheinend unbegrenzt.

Durch „Schnellfärbung“[4]), d. h. kurzes Einwirkenlassen mehr oder weniger konz. Lösungen von bestimmten Farbstoffen, kann man oft leicht den Zustand des zur Verfügung stehenden Materials feststellen. Bringen wir z. B. einige der Algenfäden in eine kräftige Lösung von Kongorot, einen Farbstoff, der von der lebenden Zelle nicht aufgenommen wird, und beobachten wir, daß einzelne Zellen schon nach einigen Min. sich gefärbt zeigen, so kann man annehmen, daß diese tot oder zum mindesten stark alteriert waren, als sie in die Farbflüssigkeit kamen. Allerdings wirkt in solchen

---

[1]) Vgl. u. a. J. Massart, Recueil de l'Instit. Bot., Bruxelles, Bd. V, 1902, S. 253, und F. Kohl, l. c. 1903, S. 202.
[2]) Vgl. R. Hegler, l. c. 1901, S. 290.
[3]) A. Fischer, l. c. 1905, S. 65, und Anatom. Anzeiger, Bd. XXVI, 1905, S. 399.
[4]) F. Brand, bes. in Hedwigia, Bd. XLV, 1906, S. 12.

Fällen manchmal der Umstand störend, daß auch Scheiden und Gallerte mancher Spaltalgen durch diesen Farbstoff stark gerötet werden. Da verwende man besser Eosin, das diese Membranbildungen entweder gar nicht, oder nur schwach färbt, während es den toten oder stark erkrankten Zellinhalt ebenso intensiv färbt, wie Kongorot. Da das Eosin aber für die Zelle nicht so unschädlich ist, wie Kongorot, darf seine Einwirkungsdauer nicht länger als höchstens 10 Min. währen.

Es ist bei diesen kleinen Organismen nicht immer leicht, entwicklungsgeschichtliche Studien zu betreiben und mit einer Sicherheit, die alle Fehlerquellen ausschließt, festzustellen, daß gewisse Zustände auseinander hervorgehen. Mit Vorteil bedient man sich bei Spaltalgen für solche Untersuchungen bestimmter Fangapparate[1]). Die fadenförmigen Spaltalgen kriechen gern in abgestorbene Zellen von Wasserpflanzen, wie besonders von Lemnen und Utricularien, ebenfalls auch in die Gehäuse von Protozoen (Arzellen, Difflugien) und Krebsen (Cypris) hinein. Meist ist es nur ein Faden, der dies tut, wobei er sich entweder spiralig einrollt oder unregelmäßig krümmt; nur in die größeren Cypris-Schalen können mehrere Fäden einwandern. An so gefangenen Fäden lassen sich entwicklungsgeschichtliche Veränderungen mit Ausschluß der Fehlerquellen verfolgen. Man stellt sich zunächst eine ganz reine Kultur der bestimmten Spaltalge her. Zu diesem Zweck benutzt man die Eigenschaft der Spaltalgen, an den Wandungen der Gefäße eine Strecke weit über den Wasserspiegel emporzukriechen. Schöpft man dann das Material aus jener Gegend, so ist man ziemlich sicher, die Spaltalge rein zu erhalten. Dieses wahrscheinlich reine Material überträgt man in Gefäße, die ausgekochtes Brunnen- oder Sumpfwasser, oder auch entsprechende Nährstofflösungen enthalten. Die empfohlenen Fangapparate, die im stehenden oder fließenden Wasser überall zu finden sind, setzt man der Kulturflüssigkeit zu[2]). Die Gehäuse der Protozoen und der mikroskopischen Krebse, um die es sich hierbei handelt, vertragen durchaus das Auskochen, so daß sie auf diese Weise zuvor von allen anhängenden Keimen befreit werden können. — Die Spaltalgen lassen sich mit sehr gutem Erfolg in der Knopschen Nährlösung kultivieren[3]). Auch würde sich unter Umständen ihre Reinkultur auf einem festen, durchsichtigen Nährboden (S. 402, 444 u. 473) empfehlen.

---

[1]) W. Zopf, Bot. Zentralbl., Bd. X, 1882, S. 33.
[2]) Vgl. W. Zopf, Morph. d. Spaltpflanzen, 1882, S. 54.
[3]) R. Chodat u. M. Goldflus, Bull. de l'Herbier Boissier, T. V., 1901, S. 953.

XXI. Abschnitt.

Bakterien. Ihre Formen. Methoden der Untersuchung. Deckglaspräparate. Härtung und Färbung der Bakterien. Sporenfärbung. Untersuchung der Gewebe auf Bakterien. Deren Härtung und Färbung. Die Gramsche Methode. Differentialdiagnose.

Entwicklungsgeschichte. Wiederfinden bestimmter Stellen im Präparat. Sporenbildung. Keimung. Geißelfärbung. Bewegung der Schwärmer für Sauerstoffnachweis. Chemische Reize. Bakterienfang in Kapillaren. Bakterienkultur auf durchsichtigen, festen Medien und auf undurchsichtigen, festen Medien. Ein-Zellkultur. Sterilisieren der Kulturmedien. Brutschränke. Konservieren der Kulturen.

Untersuchungsmaterial.

Bakterien spontaner Kulturen. Bakterien des Zahnbelegs. Bacillus radicicola.

Bacillus subtilis. Fäulnis-Bakterien.

Wichtigste Reagentien und Farbstoffe.

Unbedingt notwendig sind Jodjodkaliumlösung, 50-proz. Essigsäure, 3-proz. Kalilauge, Gentianaviolett, Methylenblau, Karbolfuchsin, Anilinwasserfuchsin. Wegen der anderen in Betracht kommenden Hilfsmittel wolle man den Text vergleichen.

Es soll nunmehr unsere Aufgabe sein, auf dem Gebiet der kleinsten Organismen, die wir bisher kennen, der Bakterien, uns zurechtzufinden. Die allgemeine Verbreitung dieser Organismen in großer Artenzahl über die ganze Erde und die Bedeutung, die ihnen als Erreger der Fäulnis, der Verwesung, zahlreicher Gärungsvorgänge und der Infektionskrankheiten zukommt, hat ihrem Studium in den letzten Dezennien eine ungeheure Ausdehnung gegeben. Die „Bakteriologie" ist zu einer besonderen Wissenschaft herangewachsen und wird in zahlreichen, mehr oder weniger umfangreichen Werken behandelt[1]). Diese befassen sich vornehmlich mit der mikroskopischen Unter-

[1]) Überblick über das gesamte Gebiet und die Literatur in A. FISCHER, Vorlesungen über Bakterien, 2. Aufl. 1903 (vergr.); W. BENECKE, Bau und Leben der Bakterien, 1912. — Für den Gebrauch des Mediziners besonders zu empfehlen: K. B. LEHMANN und R. NEUMANN, Atlas und Grundriß der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik, 6. Aufl., 1919; K. LAUBENHEIMER, Allgemeine Bakteriologie und Sterilisationslehre, 1915; ferner R. ABEL, Bakteriologisches Taschenbuch, 25. Aufl., 1922. In botanischer Beziehung: A. MEYER, Praktikum der botanischen Bakterienkunde, 1903; Derselbe, Die Zelle der Bakterien, 1912; W. MIGULA, System der Bakterien, 1897—1900; Derselbe auch im Handbuch der techn. Mykologie, her. von LAFAR, Bd. I, 1904; ferner Abschnitt „Bakterien", bearb. von H. MIEHE, W. BENECKE, A. KOCH und W. OMELIANSKY im Handwörterbuch der Naturwiss., Bd. I, 1912, S. 777 ff. In landwirtschaftlicher Hinsicht: F. LÖHNIS, Handbuch der landwirtschaftl. Bakteriol., 1910; Derselbe, Vorlesungen über landwirtschaftl. Bakteriol. 1913, und Landwirtschaftl. Bakteriol. Praktikum, 2. Aufl., 1920. Auch auf das Zentralbl. f. Bakteriologie und Parasitenkunde sei hingewiesen.

scheidung der Bakterien auf Grund bestimmter Färbemethoden. mit ihrer Reinkultur, auch ihrer chemischen und pathogenen Wirkung. Auf diese Werke muß derjenige verwiesen werden, der speziell bakteriologischen Studien obliegen will. Der vorliegende Abschnitt kann nur den Zweck verfolgen, den Anfänger in das Gebiet der Bakteriologie einzuführen: er soll ihn mit der botanischen Seite der Aufgabe bekannt machen, ihm einige der wichtigsten Präparations- und Färbemethoden vorführen und einen gewissen Einblick in die Technik der Reinkulturen verschaffen. Die gewissenhafte Erledigung dieses Abschnittes dürfte den Beobachter zu jeder weiteren bakteriologischen Arbeit vorbereiten.

Wir haben es bei den Bakterien mit sehr einfach gebauten Organismen zu tun. Ihrer Form nach lassen sie sich als Kokken (sehr kleine. kugelrunde Zellen), Bakterien oder Bazillen (kürzere oder längere, gerade Stäbchen), Vibrionen (Stäbchen mit schwachschraubiger Krümmung), Spirillen (längere, schraubig gekrümmte Stäbchen) und Spirochäten[1]) (besonders lange, dünne, korkzieherartig gewundene Formen, vgl. darüber S. 466) unterscheiden. Außer diesen einzelligen, als Haplobakterien bezeichneten Formen sind noch die mehrzelligen Fadenbakterien (Trichobakterien) anzuführen, die in manchen Fällen unechte Verzweigung aufweisen. — In erschöpftem Nährboden oder unter sonstigen ihnen nicht zusagenden Bedingungen stellen sich bei den Bakterien nicht selten Gestaltsveränderungen ein, die wohl meist als Absterbeerscheinungen zu deuten sind. Es entstehen die sog. Involutionsformen. Ein Fall solcher Involution soll bei der Bildung der „Bakteroiden“ in den Wurzelknöllchen der Leguminosen vorliegen, jener verzweigten Formen, die sich aus den ursprünglich stäbchenförmigen Knöllchenbakterien (Bacillus radicicola BEIJERINCK) entwickeln (vgl. S. 466). — Es steht jetzt sicher fest, daß den Bakterien nur ein sehr einfacher Entwicklungskreis zukommt. Der früher für sie behauptete Pleomorphismus trifft, wie neuere Untersuchungen lehren, auch für die höchst differenzierten z. T. einen Unterschied von Scheitel und Basis aufweisenden Schwefel- und Eisenbakterien nicht zu. Die Vermehrung der Bakterien geschieht durch fortgesetzte Zweiteilung. Diese Art der Vermehrung hat ihnen den Namen „Spaltpilze“ oder „Schizomyceten“ verschafft. Die Teilungen folgen bei der Mehrzahl der Formen stets in derselben Richtung aufeinander. Fälle, in denen die Teilungsebenen sich senkrecht schneiden und eine Anordnung in Rechtecke oder Würfel veranlassen, sind auf nur wenige, ganz bestimmte Kokken-Formen, wie Pediococcus und Sarcina, beschränkt. — Die Feststellung kopulationsartiger Verbindungsstadien bei einigen Chromatien und Spirillen deutet daraufhin, daß auch geschlechtliche Vorgänge bei den Bakterien vorkommen[2]).

Die Bakterienzellen sind von einer meist dünnen, zarten Wand umgeben, deren chemische Natur noch strittig ist[3]). Nicht selten

[1]) Von einigen Forschern als besondere Gruppe zwischen die Bakterien und Flagellaten gestellt.

[2]) H. POTTHOFF, Zentralbl. f. Bakteriol. etc., 2. Abt., Bd. LV, 1921, S. 9 ff.; Derselbe in „Die Naturwissenschaften“, Bd. X, 1922, S. 441 ff. Vgl. a. G. ENDERLEIN, Beih. z. bot. Zentralbl., 1. Abt., Bd. XXXVIII, 1921, S. 53 ff.

[3]) Vgl. dazu u. a. C. VAN WISSELINGH, Pharmac. Weekblad. 1916, No. 33 und 34; Bericht darüber in Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXXIII, 1916, S. 199.

besitzen die Zellhäute der Bakterien die Fähigkeit der Gallertbildung. Ihre äußeren Membranpartien sind dann gequollen, und zwar manchmal so stark, daß die Zellen oder Zellketten in Gallerte eingebettet erscheinen, ein Zustand, den man mit „Zoogloea" bezeichnet. Schwächere, scharf umschriebene Gallerthüllen um die Bakterienzellen nennt man „Kapseln"[1]). Manche fadenförmige Bakterien scheiden feste Hüllen (Scheiden) aus, in denen sie wie in Röhren stecken.

Der Inhalt der Bakterienzellen besteht aus meist farblosem Plasma, das einen einzigen Saftraum oder mehrere Vakuolen umschließen kann. Letztere sind bei gestreckten Formen vielfach in einer Längsreihe angeordnet, wodurch der Bakterienkörper wie septiert erscheint. Im Plasma jeder Zelle lassen sich ein oder mehrere kleine, besonders stark Farbstoff speichernde Körperchen, Chromatinkörner, nachweisen[2]). Einen Teil dieser Gebilde hat man als Zellkerne gedeutet[3]). Außerdem findet man gelegentlich mehr oder weniger stark lichtbrechende Körner, Kugeln oder Tröpfchen, die meist Reservestoffe darstellen, als mikroskopisch erkennbare Einschlüsse im Plasma der Bakterienzelle vor[4]).

Durch Eintrocknen auf dem Deckglas, so auch mit Kalisalpeter- oder Rohrzuckerlösung, lassen sich viele Bakterien plasmolysieren. Um raschen Erfolg zu erzielen, kann man gleich ziemlich konz. Lösungen, etwa 5-proz. Kalisalpeterlösung oder 10-proz. Rohrzuckerlösung anwenden[5]). — Ein anderer Vorgang, die „Plasmoptyse", spielt sich oft bei Bakterien, und zwar hauptsächlich bei Vibrionen ab, die aus der Kulturflüssigkeit in schwächere oder konzentriertere Lösungen übertragen werden, oder sonstwie ungünstigen Daseinsbedingungen ausgesetzt sind. Es wird dabei oft mit großer Gewalt ein Teil des Plasmas aus dem Bakterienkörper hervorgepreßt, der sich abkugelt und mit einer neuen Hülle umgeben kann, aber doch nach einiger Zeit zugrunde geht[6]).

Das Protoplasma der lebenden Bakterienzelle ist im allgemeinen farblos, doch führt es z. B. bei den Purpurbakterien einen roten und einen grünen Farbstoff, von denen der eine als Bakteriopurpurin, der andere als Bakteriochlorin bezeichnet wird[7]). Bei makroskopischer Betrachtung von Anhäufungen auch anderer Bakterien ist ferner oft eine bestimmte Farbtönung (grau, gelblich) festzustellen; ja auch leb-

---

[1]) Über ihren Nachweis vgl. Reg. IV, Bakterien-Kapseln.

[2]) Vgl. bes. A. Fischer, l. c. 1903.

[3]) U. a. von A. Meyer, Flora, Bd. LXXXVI, 1899, S. 428, und Ebenda, Bd. XCVIII, 1908, S. 335, ferner l. c. 1912, S. 64 ff.; A. Guilliermond, Arch. f. Protistenk., Bd. XII, 1908, S. 14, und Compt. rend. Soc. Biol., Bd. LXVII, 1909, S. 102; B. Němec, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXVIa, 1908, S. 809; A. Prazmowski, Zentralbl. f. Bakteriol., Bd. XXXVIII, 2. Abt., 1913, S. 444; Eug. Paravicini, Ebenda, Bd. XLVIII, 1918, S. 337. In diesen Arbeiten auch die Angaben über die entspr. Darstellungs-Methoden und gegnerische Anschauungen.

[4]) Vgl. S. 456, ferner A. Fischer, l. c. 1903, S. 15 und W. Benecke, l. c. 1912, S. 128 ff.

[5]) A. Fischer, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXVII, 1895, S. 2, und Derselbe, l. c. 1903, S. 20.

[6]) A. Fischer, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh., Bd. XXXV, 1900, S. 1, und l. c. 1903, S. 48; ferner Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXIV, 1906, S. 55. Verschiedentlich Einwände dagegen von A. Meyer, Ebenda, 1905 und 1906; s. a. J. Schuster, Ebenda, 1910, S. 488, u. a. m.

[7]) H. Molisch, Die Purpurbakterien, 1907.

hafte Färbungen kommen vor. Diese Färbungen können an die Membranen gebunden sein, werden aber meist von dem farblos bleibenden Bakterienkörper in die angrenzenden Teile des Kulturmediums ausgeschieden und lassen sich vielfach zur makroskopischen Unterscheidung der Arten benutzen. So zeigen blutrote Stellen auf kohlenhydrathaltigen Medien, wie Brot, Kartoffelscheiben u. a., die Gegenwart des Bacillus prodigiosus[1]) an.

Gewisse Bakterien sind dadurch ausgezeichnet, daß sie auf den der Sporenbildung vorausgehenden Stadien, so Bacillus Amylobacter, oder auch unabhängig von der Sporenbildung, so Bacterium Pasteurianum, und gelegentlich auch Bacillus maximus buccalis, ein mit „Granulose" oder „Jogen" bezeichnetes Amylose-ähnliches Kohlenhydrat[2]) in ihrem Körper bilden, und sich dann nach Zusatz der Jodlösung entweder ihrer ganzen Masse nach, oder mit Freilassung bestimmter Querzonen, blau bis violett färben. — Ferner finden sich in vielen Bakterien, z. B. in Bacillus tumescens, Fettröpfchen vor, die als solche durch Färbung mit Methylenblau-Sudan oder Methylenblau-Gelb (vgl. S. 133), ferner Naphtolblau (s. Reg. IV) nachgewiesen werden können. — Andere Bakterien wiederum, so Bacillus subtilis, führen Glykogen, das u. a. an seiner rotbraunen Färbung mit Jod, ferner seiner Lösung mit Diastase zu erkennen ist. Auch zeigen sich vielfach kleine Kugeln von Volutin in den Bakterienzellen, und zwar entweder allein oder neben Fett oder auch neben Glykogen. Durch Behandlung bestimmter Bakterien mit Methylenblau und nachfolgender Schwefelsäure (vgl. S. 427), wobei die Volutineinschlüsse allein die blaue Färbung behalten, läßt sich ihre Gegenwart leicht feststellen. Die als Schwefelbakterien zusammengefaßten Bakterienarten, so die Beggiatoaceen, enthalten in ihrem Innern Schwefelkörnchen von zähflüssiger Beschaffenheit; andere Bakterien, z. B. die Gattung Crenothrix, zeigen braune Eisenoxydeinlagerungen in ihrer Hülle und werden deshalb als Eisenbakterien bezeichnet[3]).

Zur Orientierung über die bei den Bakterien herrschenden Gestaltungsverhältnisse fassen wir zunächst einige allverbreitete Formen ins Auge.

Es soll uns zunächst nicht darauf ankommen, eine bestimmte Spezies zu untersuchen, wir wollen es vielmehr dem Zufall anheimstellen, welche Form er uns in die Hände spielt. Wir kochen einige grüne Blätter, etwa Salatblätter, in einem Kochbecher auf und lassen ihn offen bei relativ hoher Zimmertemperatur stehen. In einem anderen Kochbecher übergießen wir eine durch Eintauchen in kochendes Wasser getötete Erbse mit etwas Wasser. Zugleich verteilen wir gekochte Möhren-, Kohlrüben- und Kartoffelscheibchen auf Uhrgläser oder Objektträger und stellen sie hier und dort an warmen, mäßig feuchten Orten z. T. frei, z. T. unter Glasglocken auf. — Auf dem Blätterdekokt dürfte sich nach etwa 2 Tagen eine Haut gebildet

[1]) Über den als Prodigiosin bezeichneten Farbstoff vgl. Reg. IV.

[2]) Vgl. betr. der Einschlüsse und ihrer Reaktionen besonders A. Meyer, Flora, Bd. LXXXVI, 1899, S. 431 ff., bzw. l. c. 1903, S. 79 ff.; ferner Derselbe in Morphol. u. physiol. Analyse der Zelle, Jena 1920, S. 262 u. a. a. O.; auch W. Benecke, l. c. 1912, S. 128 ff.

[3]) Näheres über diese Bakteriengruppe bei H. Molisch, Die Eisenbakterien, 1910. Vgl. auch R. Lieske, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. IL, 1911, S. 91.

haben, die wir als Kahmhaut bezeichnen. Auf den verschiedenen Gemüsescheibchen sehen wir weißliche, oder verschieden gefärbte gallertartige Punkte und Tröpfchen auftreten und, an Größe zunehmend, miteinander verschmelzen; auf den Kartoffelscheiben nehmen die Gebilde meist die Gestalt einer weißen, später grauen, zuletzt braunen, runzligen Haut an. — Von einer dieser Gallertmassen übertragen wir eine Spur in einen Tropfen reinen Wassers auf den Objektträger. Diese Übertragung geschieht am besten mit einer Platinöse, d. h. einem an seinem Ende ösenförmig umgebogenen, in ein Glasstäbchen eingeschmolzenen Platindraht[1]). Die Platinöse wird zuerst geglüht und gleich nach dem Abkühlen benutzt, wenn es gilt, etwaige Verunreinigungen des Materials durch andere Bakterien auszuschließen. Den mit einem dünnen Deckgläschen bedeckten Tropfen untersuchen wir bei möglichst starker Vergrößerung und finden, daß er eine Unzahl äußerst kleiner, fast punktförmig erscheinender Körperchen enthält. Diese Körperchen zeigen eine perlschnurförmige Aneinanderreihung; man sieht sie auch einzeln oder in Paaren oder auch in größerer Zahl zu Fäden vereinigt. Wir haben es allem Anschein nach mit Kokken zu tun, die in eine gallertartige Substanz eingelagert sind und so eine Zoogloea bilden. — Sehr leicht möglich ist es, daß uns die in Untersuchung genommene Gallerte nicht runde Kokken, sondern kürzere oder längere Stäbchen vorführt. In den längeren Stäbchen ist eine Zusammensetzung aus kürzeren Gliedern nachzuweisen, die besonders deutlich hervortritt, wenn wir eine Jodlösung am besten 0,5 T. Jodkalium, 1,0 T. Jod auf 100 T. Aq. dest., dem Präparat zusetzen. Die Glieder erscheinen dann viel kürzer, als wir sie im frischen Zustand sahen, es treten jetzt nämlich auch solche Scheidewände in die Erscheinung, die zuvor unsichtbar blieben. Aus solchen Bildern können wir auch ein Urteil über die Vermehrung der Bakterien, die durch fortgesetzte Zweiteilung erfolgt, gewinnen.

Um die Grenzen der Gallertmassen an lebenden, ungefärbten Objekten hervortreten zu lassen, halten wir uns am besten an chinesische Tusche[2]). Diese muß sehr sorgfältig in Wasser verrieben werden, kann aber auch gleich in flüssiger Form, wie sie u. a. von *Dr. G. Grübler & Co.* - Leipzig zu beziehen ist, in Anwendung kommen. Ein Tropfen der Tusche wird auf den Objektträger, die zu untersuchende Gallertmasse auf das Deckglas gebracht und nun das Deckglas dem Tropfen aufgelegt. So wird vermieden, daß Tusche-Partikelchen zwischen die Gallerte und das Deckglas gelangen. Die Grenzen der Gallerte sind alsdann scharf gegen die mit feinen Tusche-Teilchen erfüllte Flüssigkeit, die keinerlei schädlichen Einfluß auf das Objekt ausübt, abgesetzt.

In der Kahmhaut (vgl. Fig. 188 *A*), die sich auf der Oberfläche des Blätterdekoktes gebildet hat, liegt uns ebenfalls eine Form der Zoogloea vor. Auch bei dieser werden nämlich die Zellreihen durch

---

[1]) Statt des teueren Platins ist neuerdings Chromnickeldraht beim bakteriologischen Arbeiten empfohlen worden. Vgl. W. FRIEBER, Zentralbl. f. Bakteriol. etc., I. Abt., Bd. LXXXVI, 1921, S. 247.

[2]) Nach L. ERRERA, Bull. d. l. soc. Belg. d. micr., T. X, No. 11. Statt der Tusche läßt sich auch natürliche Sepia oder auch kolloidale Silberlösung (s. Reg. IV Collargol) verwenden. S. a. S. 413 dieses Praktikums.

Gallerte, und zwar flächenartig, zusammengehalten. Diese Haut ist von feinen, wellig gekrümmten, streckenweise parallel verlaufenden Fäden durchzogen, die aus Kokken oder, wie gewöhnlich, aus Stäbchen gebildet werden. Die Gliederung zu Kokken oder Stäbchen tritt auch hier nach Zusatz von Jodlösung besonders deutlich hervor. Aus solcher Kultur geschöpftes Material wird uns auch oft schwärmende Entwicklungszustände vorführen. Namentlich können wir fast sicher sein, solche nach 1—2 Tagen in dem über Erbsen gegossenen Wasser aufzufinden. Wir sehen dann die betreffenden Bakterien in tanzender Bewegung, bald vorwärts, bald rückwärts, nach verschiedenen Richtungen hin durcheinander eilen. Man hat äußerst feine Zilien in verschiedenartiger Verteilung an schwärmenden Bakterien nachweisen können, die durch ihre Bewegung das Schwärmen veranlassen.

Untersuchen wir die Kahmhaut von Blattdekokten, die schon einige Zeit stehen, so werden wir vielleicht die Stäbchen in den Fäden in Sporenbildung begriffen finden (Fig. 188 *B*). Da hat sich der Inhalt der Zellen auf einzelne Punkte, doch in der Regel nicht mehr als einen in jeder Zelle, konzentriert und rundliche bis ellipsoidische, stark lichtbrechende Gebilde erzeugt, die wie leuchtende Körner erscheinen und Dauersporen vorstellen. Diese bleiben erhalten, während die sie umhüllenden Reste der Stäbchen verquellen und schließlich zugrunde gehen. Im Material aus anderen Kulturen werden wir häufig Stäbchen finden, die bei der Erzeugung der Dauerspore an einem Ende oder in der Mitte aufgetrieben wurden und dadurch Trommelschläger- oder Spindel-förmige Gestalt gewannen. Alle diese Dauersporen sind Endosporen, weil sie im Innern der Zelle entstehen; in ihre Bildung tritt entweder der gesamte Inhalt oder nur ein Teil ein. Bei vielen Arten fehlt bisher der Nachweis der Sporenbildung.

Bei der Untersuchung flüssiger Substrate sind die Bakterien, wenn sie nicht zu Kahmhäuten oder sonstigen Ansammlungen vereinigt sind, vielfach schwer aufzufinden. Man kann sich dabei jedoch durch die heute immer mehr vervollkommneten Dunkelfeldbeleuchtungs-Einrichtungen helfen, bei deren Anwendung selbst so kleine Gebilde wie die zarten Bakterien auf dunklem Grund hell aufleuchten. Von diesen leisten namentlich die von *Zeiss*, *Leitz* u. a. konstruierten Spiegelkondensoren (s. Einleitung S. 18 ff.) gute Dienste[1]. Auch der von *Zeiss* konstruierte Wechselkondensor (Preis 3200 M, Nr. 11 45 15) mit dem man durch Verstellen eines Hebels das Hellfeld in Dunkelfeld und umgekehrt verwandeln kann, ist hierbei mit Vorteil zu verwenden. Er wird an Stelle des gewöhnlichen Kondensors in die Schiebhülse des Beleuchtungsapparats so weit hineingeschoben, daß seine obere Fläche etwa 0,1 mm unter der Mikroskoptischfläche liegt. Dann bringt man auf ihn einen großen Tropfen Wasser und legt das Präparat auf. Die Beobachtung geschieht am besten mit einem besonderen Öl-Immersionssystem, etwa dem „Apochromat X". Auf die benutzte Objektträgerdicke kann zwischen 0,1 und 0,2 mm durch einen zweiten Hebel eingestellt werden. Zu achten ist aber auf völlige Sauberkeit von Objektträger und Deckglas. Die Lichtquelle

[1]) Vgl. u. a. N. Gaidukov, Dunkelfeldbeleuchtg. u. Ultramikroskopie, 1910, S. 45.

muß bei diesen Dunkelfeldeinrichtungen besonders stark sein; man verwendet deshalb mit Vorteil eine besondere elektrische Glühlampe oder kleine Bogenlampe (s. auch S. 20). *Leitz* liefert ebenfalls einen Hell-Dunkelfeld-Kondensor (vgl. auch S. 20) zu 2600 M. Zu empfehlen ist noch für Dunkelfeldbeleuchtung eine neue *Leitz*sche Einrichtung, bei der zahlreiche Fehlerquellen ausgeschaltet werden. — Eine Metallfassung wird mittels Klammern auf den Objekttisch befestigt; sodann wird eine Glaskammer eingelegt. Auf den polierten Sockel wird ein Tropfen des Untersuchungsmediums gebracht und das Deckglas aufgelegt. Dann werden die Klemmfedern der Kammer auf das Deckglas aufgedrückt. Das Präparat ist so untersuchungsfertig. Bei größeren Untersuchungsreihen würde man am besten mehrere Glaseinlagen anschaffen (Kammer für Dunkelfeldbeobachtungen und Ultra-Mikroskopie mit einer Kammereinlage aus Glas und sechs Deckgläschen im Etui, Preis 420 M). Alle *Leitz*schen

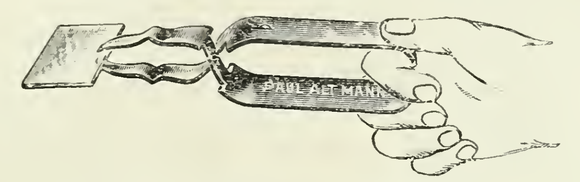


Fig. 185. CORNETsche Deckglaspinzette.

Immersionssysteme lassen sich in Verbindung mit dieser Kammer verwenden. — Ebenfalls hell leuchtend auf schwarzem Grund erscheinen die Bakterien in Tuscheemulsion[1]).

In den flüssigen Substanzen, die man auf Bakterien untersuchen will, können Granulationen verschiedener Art die Beobachtung erschweren und Veranlassung zu Täuschungen geben. Man sucht sich nun zunächst, soweit möglich, an dem frischen Objekt zu orientieren, und zieht hierauf, noch bevor man zu den Färbungen übergeht, bestimmte Reagentien zu Hilfe. Diese läßt man entweder direkt auf das feuchte Präparat einwirken, oder man trocknet dieses zunächst, was meist vorzuziehen ist. Um das zu bewerkstelligen, breitet man mit der in der Flamme sterilisierten Platinöse die zu untersuchende Substanz, die evtl. vorher durch Flüssigkeitszusatz zu verdünnen ist, auf dem Deckglas in einer möglichst dünnen Schicht gleichmäßig aus. Es ist das die gewohnte Art, ein sog. Ausstrichpräparat herzustellen. Man kann auch auf das Deckglas, das mit der betreffenden Substanz beschickt ist, ein zweites legen, so daß die Substanz sich zwischen ihnen ausbreitet, und hierauf mit den Fingern oder einer Cornetschen Deckglaspinzette[2]) (Fig. 185) beide seitlich flach auseinander ziehen. Bei pathogenen Bakterien ist dieses Verfahren freilich nicht ratsam, da es eine Infizierung der Hände veranlassen kann. Da bleiben die Deckgläser besser in staubfreiem Raum liegen, bis sie völlig lufttrocken geworden sind. Auch über der Flamme eines Bunsenbrenners kann das Präparat, und zwar viel rascher,

[1]) Vgl. auch Reg. IV Bakterien-Negativfärbung.

[2]) Solche Pinzetten von Stahl, die sich auf Druck öffnen, sind in den einschlägigen Geschäften zum Preise von ca. 35 M zu haben.

getrocknet werden, doch ist Vorsicht zu üben und das Deckglas entsprechend hoch über der Flamme zu halten. Schonender und für manche Ausstriche empfehlenswert ist es, das bestrichene Deckglas für einige Min. in Alk. abs. oder in eine Mischung von Alkohol und Äther zu tauchen. — Die Bakterien zeigen sich sehr widerstandsfähig gegen Wasser, Alkohol, Äther, verd. Mineralsäuren, Essigsäure und schwache Alkalien, und mit diesen Substanzen führen wir die Vorprüfung aus. Wir wenden 50-proz. Essigsäure oder 12-proz. Schwefelsäure, oder was noch besser ist, gleich 3-proz. Kalilauge an. In letzterer werden die Präparate gerade so durchsichtig, wie nötig; die Bakterien treten meist scharf hervor, nehmen durch Quellung an Volumen etwas zu und werden dadurch selbst weniger starken Vergrößerungen zugänglich. Da größere Fettmengen, falls in den Präparaten vorhanden, die Beobachtung sehr stören, so ist für deren Entfernung zu sorgen. Es geschieht dies entweder durch Erwärmen des mit einem Tropfen Kalilauge bedeckten Trockenpräparats über einer Flamme bis zu beginnender Blasenbildung, wobei die Fette verseift werden, oder einige Min. lange Behandlung des Trockenpräparats im Uhrglas mit Chloroform, dann mit Alk. abs. und, nach Abdunsten des letzteren, mit Kalilauge. — Eine Ausnahme in der eben erprobten Widerstandsfähigkeit stellen einige Spirillen dar, die durch die angeführten Reagentien zerstört werden. Im allgemeinen können wir annehmen, daß regelmäßig gestaltete Gebilde, die der Einwirkung von Alkohol und Äther, der genannten Essigsäure und Kalilauge auch beim Erwärmen widerstehen, den Bakterien zuzurechnen sind, wenn auch freilich in gewissen Fällen Täuschungen durch besonders widerstandsfähige und gleichmäßige Granulationen nicht ganz ausgeschlossen bleiben.

Maßgebend für die Unterscheidung der Bakterien sind deren Färbungen. Freilich können auch andere kleine, bakterienähnliche Körperchen Farbstoffe aufnehmen, ferner manche Bakterien sich nicht gleich färben lassen, so daß es sich auch hier empfiehlt, Vorsicht zu üben. Es werden vornehmlich sog. basische Anilinfarben, und zwar Methylviolett, Gentianaviolett, Fuchsin, Bismarckbraun, Dahlia zum Färben der Bakterien benutzt. Die Bakterien nehmen diese Farbstoffe nicht nur begierig auf, sie halten sie auch energisch fest, weit energischer, als die gleichzeitig in den Präparaten vorliegenden Elemente der Gewebe. Die Farbstoffe sind in gesätt. wässr. Lösungen, die frisch dargestellt oder mindestens frisch filtriert sein müssen, oder in verd. alkohol. Lösungen anzuwenden. Um letztere herzustellen, hält man gesätt. alkohol. Lösungen dieser Farbstoffe, am besten in Tropffläschchen, bereit und setzt sie dann tropfenweise größeren Mengen Aq. dest. zu. Die zur Verdünnung angewandte Wassermenge hat mindestens das Zehnfache der alkohol. Lösung zu betragen. Die wässr. Methylviolett-, Gentianaviolett- oder Fuchsinlösung muß stets frisch dargestellt werden, während die verd. Methylenblaulösung haltbar ist. Bismarckbraun, das übrigens nur selten noch verwendet wird, hat man, da es sich in Alkohol verändert, in wässr. Lösung zu halten; es ist aber vor jeder Benutzung zu filtrieren. — Es sei hierbei auch auf die seit einiger Zeit in den Handel gebrachten Farbstofftabletten[1]) hingewiesen, die mit je 10 ccm Wasser eine ge-

[1]) Nach E. Beintker. Vgl. a. Reg. IV Farbstifte.

brauchsfertige, haltbare Lösung liefern und deshalb besonders zu empfehlen sind, weil die daraus hergestellten Lösungen homogenklar und damit stets gleich stark konzentriert bleiben, während bei Herstellung der gewöhnlichen Farblösungen meist durch Aufwirbeln des Bodensatzes in der Stammlösung die Konzentration verändert wird.

Die in einem flüssigen Medium befindlichen Bakterien breitet man, so wie wir das zuvor schon getan hatten, in möglichst dünner Schicht auf dem Deckglas aus und läßt sie bei Zimmertemperatur, vor Staub geschützt, eintrocknen. Enthält die Flüssigkeit Eiweißkörper oder Schleim, so müssen diese nach völligem Austrocknen des Präparats noch fixiert werden, was durch mehrtägiges Einlegen des Deckglases in Alk. abs. bzw. Alkohol-Äther oder durch höhere Temperatur zu erreichen ist. Will man letztere zur Einwirkung bringen, so läßt man das mit einer Pinzette, am besten mit der CORNETschen Deckglaspinzette (Fig. 185), festgehaltene Deckglas etwa 3 mal ziemlich rasch die Flamme eines BUNSENschen Gasbrenners oder eine kräftige Spiritusflamme passieren, wobei die mit Bakterien bestrichene Seite nach oben zu kehren ist. Es empfiehlt sich dabei das Deckglas drei Kreise innerhalb der Flamme beschreiben zu lassen und die Zeit für jeden dieser Kreise auf ca. 1 Sek. zu bemessen. Durch zu lange Einwirkung der Flamme leidet die Färbungsfähigkeit der Bakterien; es gilt somit, die Zeit der Einwirkung genau festzuhalten. Man färbt, indem man über das in dieser oder jener Weise vorbereitete Deckglas, das aber für alle Fälle lufttrocken sein muß, einige Tropfen des Farbstoffs bis zum Rand ausbreitet und ihn einige Sek., doch unter Umständen noch länger, selbst bis 5 Min. lang, bei gewöhnlicher Temperatur einwirken läßt. Bei solchen Bakterien, die den Farbstoff schlecht aufnehmen, unterstützt ein Erwärmen der Farbstofflösung die Färbung. Man hält dann das mit der Farbstofflösung bedeckte Deckglas 10—60 Sek. lang in die Flamme, bis die Lösung zu dampfen beginnt. Nach vollzogener Färbung wird das Deckglas in Wasser abgespült und seine bakterienfreie Seite mit einem Leinwandläppchen oder Fließpapier abgetrocknet. Dann legt man es, mit der gefärbten Seite nach unten, in einen Wasser- oder Glyzerintropfen auf den Objektträger und beginnt hierauf mit der Untersuchung. Oder man läßt das Deckglas nach erfolgtem Abspülen und Reinigen, was in diesem Fall stets mit Aq. dest., das keine Rückstände hinterläßt, auszuführen ist, bei Zimmertemperatur trocken werden, setzt der gefärbten Seite zum Aufhellen einen Tropfen Terpentinöl, Xylol, Zedernholzöl oder Bergamottöl auf, und führt in diesem die Beobachtung aus. Hat eine Überfärbung des Objekts stattgefunden, so entzieht man ihm einen Teil des Farbstoffs, indem man Alk. abs. entsprechend lange einwirken läßt. Dasselbe Ergebnis kann man erzielen, wenn man zum Aufhellen der Präparate Nelkenöl verwendet, das ebenfalls, je nach der Länge der Einwirkung, den Farbstoff mehr oder weniger auszieht. Zu dem gleichen Zweck ist auch empfohlen worden, die mit Wasser abgespülten Präparate 1 Sek. lang in ganz verdünnte und zwar 0,5-proz. Essigsäure zu tauchen[1]). Überfärbte Präparate, denen ein Teil ihres Farbstoffs wieder entzogen wird, geben oft die schönsten Bilder. Soll das Präparat dauernd auf-

[1]) C. GÜNTHER, Einführg. in d. Studium d. Bakteriologie, 6. Aufl., 1906, S. 117.

bewahrt werden, so entfernt man die aufhellende Flüssigkeit mit Fließpapier und bettet am besten in Kanadabalsam ein. Der Kanadabalsam darf aber nur in Xylol oder in Terpentin, nicht in Chloroform gelöst sein, da letzteres die basischen Anilinfarben auszieht. Aus diesem Grund soll auch der Kanadabalsam nicht warm angewandt werden. Für Dauerpräparate schadet etwas Überfärbung zunächst nicht, da im Balsam schließlich doch die Intensität der Färbung abnimmt. — Man achte darauf, falls das Präparat später bei homog. Immersion untersucht werden soll, daß der Kanadabalsam nicht am Deckglasrand hervortrete, denn er ist in den Immersionsölen löslich, und so könnte das ganze Deckglas verunreinigt werden. Um diesem Übelstand vorzubeugen, kann man am Deckglasrand, nachdem der Kanadabalsam fest geworden ist, einen Rahmen von Gold-Size, das in den Immersionsölen nicht löslich ist, auftragen. Man benutze hierzu einen feinen Pinsel und sorge dafür, daß dieser Kitt nicht mehr als nötig über den Deckglasrand greife. — Statt des Kanadabalsams kann man auch säurefreies, kristallhelles, farbloses Paraffinöl als Einschlußmedium benutzen[1]). Auf die, wenn möglich in einem Wärmeschrank bei 100—110° vollkommen lufttrocken gemachten Präparate wird das Paraffinöl gebracht und der Verschluß mit einer etwa 10-proz. Gelatine bewirkt, der man 1-proz. Karbolsäure zusetzt und die man durch 1—3% Zucker oder Glyzerin geschmeidig hält. Diese Gelatine bringt man am besten samt einem feinen Pinsel in einem Probierröhrchen unter und verflüssigt sie vor jedesmaligem Gebrauch über der Flamme. — Die mit Bismarckbraun gefärbten Präparate behalten ihre Färbung auch in Glyzerin und können somit in diesem aufbewahrt werden. Den Verschluß am Deckglasrand stellen wir alsdann mit Kanadabalsam in Chloroform her. Nach einigen Tagen oder Wochen bringen wir über dem Kanadabalsam noch einen Verschluß mit dem vorhin genannten Kitt an. Auch können die Bismarckbraun-Präparate in Glyzerin-Gelatine eingebettet werden und verlangen dann keinen weiteren Verschluß. Hat man den Wunsch, eine größere Menge von Bakterien auf einmal zu färben, so führt man die vorhin geschilderten Präparationsmethoden auf einem Objektträger statt auf dem Deckgläschen aus. Nach Trocknen der bakterienhaltigen Schicht kann man Immersionsöl auftropfen lassen und in diesem ohne Deckglas untersuchen. Stellen, deren Erhaltung wünschenswert erscheint, werden mit Kanadabalsam und Deckglas bedeckt.

Hat sporenbildendes Material in unseren Kulturen vorgelegen, so werden wir bei etwaigem Versuch, es zu färben, festgestellt haben, daß die Sporen ungefärbt blieben. Der Farbstoff konnte durch die dichte Sporenmembran nicht eindringen. Führen wir hingegen die lufttrockenen Deckglaspräparate hinreichend oft durch die Flamme, etwa 10—40 mal, je nach der Natur der Sporen, so werden sie färbbar. Gleichzeitig verlieren aber die übrigen Teile der sporenbildenden, sowie die nicht in Sporenbildung befindlichen Bakterien, so auch das Zytoplasma und die Kerne der im Präparat etwa vertretenen Gewebeelemente, mehr oder weniger vollständig ihre Färbungsfähigkeit. Dieselben Erfolge werden erzielt, wenn man das lufttrockene

[1]) Nach C. O. HARZ, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XX, 1903, S. 187 und 292.

Deckglaspräparat etwa $^1/_4$—$^1/_2$ Std. lang im Wärmeschrank bei 180° bis 200° verweilen läßt. Um schöne Sporenfärbungen und zugleich auch Färbungen des übrigen Bakterienkörpers zu erzielen, wenden wir am besten das EHRLICHsche Anilinwasser-Fuchsin an. Dieses Anilinwasser-Fuchsin stellen wir uns her[1]), indem wir zunächst gereinigtes Anilinöl im Überschuß mit Aq. dest. etwa 1 Min. lang schütteln. Es dürften ca. 5 ccm Anilinöl auf 100 ccm Wasser anzuwenden sein. Man läßt 5 Min. stehen, filtriert dann durch ein zuvor mit Aq. dest. angefeuchtetes Filter. Das Filtrat muß wasserklar sein, und es empfiehlt sich, es stets frisch herzustellen. Man fügt ihm so lange alkohol. Fuchsinlösung hinzu, bis die Flüssigkeit deutlich zu opalisieren beginnt oder in reagenzglasstarker Schicht eben noch durchsichtig ist. Das getrocknete und 3 mal durch die Flamme gezogene Deckglaspräparat läßt man, die Schicht nach unten, auf einer heißen Lösung dieses Anilinwasser-Fuchsins 1 Std. lang schwimmen. Die Sporen und das Protoplasma der Bakterien sind alsdann gleichmäßig gefärbt. Es empfiehlt sich nunmehr, die Sporen gegen den übrigen Körper der Bakterien durch eine Doppelfärbung besser abzuheben. Hierzu dürfte, nach Anwendung des Anilinwasser-Fuchsins, wässr. oder verd. alkohol. Methylenblaulösung besonders geeignet sein. Die beabsichtigte Doppelfärbung gelingt am sichersten, wenn man das überschüssige Anilinwasser-Fuchsin durch Einlegen des Präparats für eine Sek. bis Min. in Alk. abs., bzw. selbst in einem mit Salzsäure ganz schwach angesäuerten Alkohol, entfernt und dann erst die Methylenblaulösung einwirken läßt. In manchen Fällen muß man statt des reinen oder schwach angesäuerten Alkohols verd. Mineralsäuren anwenden, um ganz scharfe Bilder zu erhalten. Eine gelungene Doppelfärbung mit Anilinwasser-Fuchsin und Methylenblau zeigt die Sporen rot, den übrigen Bakterienkörper mehr oder weniger dunkelblau gefärbt. Statt des Anilinwasser-Fuchsins ist mit eben solchem Erfolg heiße ZIEHLsche Karbol-Fuchsinlösung zur Sporenfärbung zu verwenden. Die Lösung stellt man her, indem man in 100 T. 5-proz. Karbolsäure und 10 T. Alkohol 1 T. Fuchsin auflöst[2]). Besonders bewährt hat sich die Färbung mit Karbol-Fuchsin nach vorausgegangener Chromsäurebeizung. Man läßt zu diesem Zweck auf die mit Alk. abs. fixierten Präparate 5-proz. Chromsäure 1—2 Min. einwirken, spült mit Wasser ab, tropft Karbol-Fuchsin auf und erwärmt etwa 1 Min. lang bis zur Dampfbildung. Dann differenziert man mit 10-proz. Schwefelsäure oder anderen schwachen Säuren, bis die rote Farbe fast verschwunden ist, spült mit Wasser ab und färbt in der zuvor geschilderten Weise mit Methylenblau nach[3]). Beide Lösungen, sowohl die EHRLICHsche wie die ZIEHLsche, besonders aber die erstere, erfreuen sich für Bakterienfärbungen überhaupt einer sehr weiten Verbreitung. Statt mit Fuchsin kann die EHRLICHsche Lösung auch mit Gentianaviolett oder Methylviolett angewandt werden. Sie hält sich meist nur wenige Tage und ist im allgemeinen erst 24 Std. nach ihrer Herstellung zu verwenden; die ZIEHLsche

---

[1]) P. EHRLICH, Deutsche med. Wochenschrift, 1882, Nr. 19.

[2]) Nach NEELSEN modifiziert, vgl. A. JOHNE, Fortschr. d. Med., 1885, S. 200.

[3]) Nach MÖLLER in R. ABEL, l. c. 1922, S. 53; s. a. Reg. IV Bakterien-Sporenfärbung.

ist hingegen dauernd haltbar. Die Färbungsfähigkeit der EHRLICHschen Lösung wird noch gesteigert, wenn zu 100 ccm des gesätt. Anilinwassers 1 ccm einer 1-proz. Natriumhydratlösung und hierauf statt alkohol. Farbstofflösungen 4—5 g festes Fuchsin, Methylviolett oder Methylenblau hinzugefügt und die Lösung tüchtig geschüttelt wird[1]).

Es dürfte sich nur in den seltensten Fällen empfehlen, Schnitte aus frischem Gewebe auf Bakterien zu untersuchen. Viel vorteilhafter, und meistens durchaus notwendig, ist es vielmehr, solche Gewebe zuvor zu härten. Zur Härtung hat sich für diese Zwecke der Alk. abs. am besten bewährt, da bei Anwendung anderer Härtungsmittel das Gelingen der späteren Färbungen weniger sicher wird. Die im Alkohol zu härtenden Gewebestücke sollten nicht über haselnußgroß sein und mindestens 3 Tage in verhältnismäßig großer Menge öfters erneuerten Alk. abs. gelegen haben. — Nicht alle Bakterien lassen sich gleich leicht färben. Fast stets erfolgt aber eine Färbung bei Anwendung einer starken alkalischen Lösung von Methylenblau, die als das universellste Färbungsmittel für Bakterien gelten kann. Diese Lösung wird hergestellt, indem man 30 ccm konz. alkohol. Lösung von Methylenblau in 100 ccm Kalilauge 1 : 1000 bringt[2]). Die Färbung ist in wenigen Min. vollzogen, worauf die Schnitte in 0,5-proz. Essigsäure abgespült, weiterhin in Alkohol entwässert werden und durch Zedernholzöl oder Xylol in Kanadabalsam gelangen.

Wünscht man nur bestimmte Bakterien in den Schnitten gefärbt zu behalten, so sucht man die übrigen sowie die Gewebe wieder zu entfärben. Die Bakterien widerstehen im allgemeinen der Entfärbung besser als die Gewebeelemente, zeigen andererseits verschiedene Widerstandsfähigkeit. Am häufigsten wird für eine solche „Isolierung“, d. h. isolierte Bakterienfärbung, die GRAMsche Methode[3]) angewandt. Diese ist im besonderen dadurch ausgezeichnet, daß sie eine Färbung der Kerne in den Gewebezellen bewirkt, ohne die Färbung der meisten Bakterien zu verändern. Die Schnitte werden zunächst mit Anilinwasser-Methylviolett oder Anilinwasser-Fuchsin gefärbt. Man stellt sich diesen Farbstoff, ähnlich wie wir es zuvor schon getan, her, indem man 5 ccm reines Anilinöl zu etwa 95 ccm Aq. dest. zusetzt, gehörig schüttelt und durch ein zuvor angefeuchtetes Filter filtriert. Zu dem klaren Anilinwasser werden nun 11 ccm einer konz., alkohol. Methylviolettlösung (am besten das im Handel mit Methylviolett 6 B oder BN bezeichnete [vgl. auch Reg. IV] Methylviolett) zugesetzt, nochmals durch ein angefeuchtetes Filter filtriert und schließlich 10 ccm Alk. abs. hinzugefügt[4]). Diese Lösung hält sich etwa 14 Tage. Die mit dem Anilinwasser-Methylviolett gefärbten Schnitte werden direkt oder nach leichtem Abspülen in Alkohol, in eine Jodjodkaliumlösung übertragen, die auf 300 T. Aq. dest. 2 T. Jodkalium und 1 T. Jod enthält. Dort verweilen sie 1—2 Min. Infolge des in der Jodjodkaliumlösung erfolgten

[1]) FR. LÖFFLER, Zentralbl. f. Bakteriol., Bd. VI, 1889, S. 213.
[2]) Nach FR. LÖFFLER, Mitt. Kais. Gesundheitsamt, Bd. II, 1884, S. 439.
[3]) Fortschr. d. Mediz., Bd. II, 1884, S. 185.
[4]) Nach C. WEIGERT u. R. KOCH, Mitt. Kais. Gesundheitsamt, Bd II, 1884, S. 6.

Niederschlags werden die Schnitte schwarzpurpurrot. Die Schnitte entfärben sich hierauf nach der Übertragung in Alkohol; weiter kommen sie in Nelkenöl, dann in Kanadabalsam. Vornehmlich angewandt wird das etwas modifizierte GRAMsche Verfahren, das als GRAM-GÜNTHERsches bekannt ist[1]). Zur Entfärbung wird da nicht nur Alkohol, sondern daneben auch 3-proz. Salzsäure-Alkohol benutzt. Die mit Jodjodkalium bereits behandelten Schnitte kommen auf ½ Min. in Alkohol, genau 10 Sek. in 3-proz. Salzsäure-Alkohol, auf mehrere Min. wieder in reinen Alkohol, und, wenn nötig, wiederholt noch in bereit gehaltenen, reinen Alkohol bis zur maximalen Entfärbung, endlich, wenn kein Farbstoff mehr von den Schnitten abgeht, in Xylol und aus diesem in den in Xylol gelösten Kanadabalsam. Bestimmte Bakterien werden bei dieser Behandlung übrigens ebenso wie die Zellkerne der Gewebe ihres Farbstoffs beraubt. Es kann somit das Entfärbungsverfahren in solchen Fällen auch zur Unterscheidung der Bakterien in grampositive und gramnegative, d. h. zur „Differentialdiagnose“ dienen[2]); doch verlangt es eine sehr genaue Kenntnis und die volle Beherrschung der zu benutzenden Methode. Diese hat auch für Deckglaspräparate vielfach Anwendung gefunden.



Fig. 186. Bakterien des Zahnschleims. *a* Bacillus maximus buccalis und Leptothrix innominata, bei *a** nach Jodbehandlung, *b* Mikrokokken, *c* Spirochaete dentium, nach Jodbehandlung, *d* Vibrio buccalis. Vergr. 800.

Für das Aufsuchen der gefärbten Bakterien in Geweben läßt sich mit großem Vorteil der ABBEsche Beleuchtungsapparat und zwar in ganz bestimmter Weise benutzen[3]). Es wird nach Einstellung des Präparats die Irisblende ganz weit geöffnet, so daß der die ganze Objektivöffnung erfüllende Beleuchtungskegel zur Verwendung kommt. Dabei verschwinden die Abbildungen aller nicht gefärbten, nur durch Differenzen in dem Brechungsvermögen unterscheidbaren Teile mehr oder weniger vollständig, das Strukturbild wird sozusagen zerstört, während die gefärbten, Licht absorbierenden Körper sichtbar bleiben. Man bezeichnet dies als Isolierung des Farbenbildes. Entsprechende Effekte sind annähernd auch mit den kleineren Beleuchtungsapparaten zu erzielen.

Nach dieser allgemeinen Orientierung wollen wir versuchen, einige unschwer zu beschaffende Bakterien auf ihre morphologischen Merkmale hin näher zu untersuchen.

Wir schöpfen zunächst aus einer Quelle, die uns so ziemlich alle charakteristischen Bakterienformen gleichzeitig vorführt; es ist

[1]) C. GÜNTHER, Deutsche med. Wochenschr., 1887, S. 474, und Einführung in das Studium der Bakteriologie, 6. Aufl., 1906, S. 173.

[2]) Vgl. R. ABEL, l. c. 1922, S. 50.

[3]) Von R. KOCH, zuerst empfohlen Unters. über Ätiol. der Wundinf.-Krankh. 1878.

das der weiße Beleg der Zähne[1]). Zahlreiche Bakterienarten bewohnen ihn, und wir können fast sicher darauf zählen, Kugelbakterien, Stäbchen, Fäden und Schrauben in ihm aufzufinden (Fig. 186). Wird eine kleine Menge des genannten Belegs im Wassertropfen des Objektträgers verteilt und bei möglichst starker Vergrößerung untersucht, so fallen zunächst dickere, in parallele Büschel angeordnete und dünnere, verschlungene Fäden auf. Nach Zusatz von Jodjodkaliumlösung färben sich die dickeren Fäden blauviolett, die dünneren gelb. Die durch ihren Granulosegehalt ausgezeichneten, sich blauviolett färbenden Fäden sind als Bacillus maximus buccalis, die anderen als Leptothrix innominata (*a*, *a**) unterschieden worden. Die Jodjodkaliumlösung läßt deutlich eine Zusammensetzung dieser Fäden aus kürzeren Gliedern erkennen. Mit Jodjodkaliumlösung sich blauviolett färbende, in einer Scheide steckende Ketten von 4—10 Zellen, die sich hin und wieder beobachten lassen, hat man Jodococcus vulgaris genannt. Dazu kommen Spirochaete dentium[2]) in langen, lebhaft beweglichen Schrauben (*c*) und endlich Vibrio buccalis, sich ebenfalls lebhaft bewegend, in kommaförmigen, oft in Zweizahl verbundenen Stäbchen (*d*). Außerdem finden sich in der Mundhöhle gelegentlich eine größere Zahl anderer, z. T. noch nicht genauer studierter Bakterien.

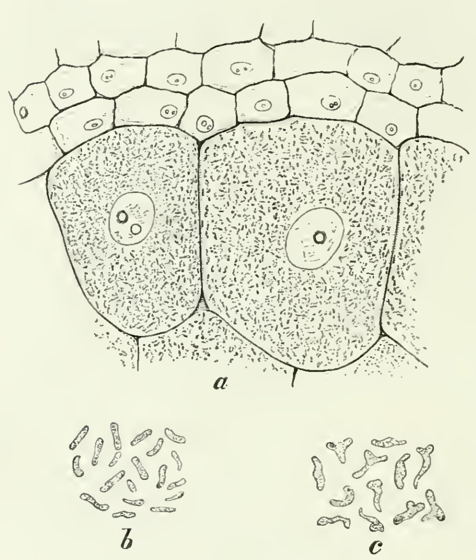


Fig. 187. Aus einem Wurzelknöllchen von Lupinus albus. *a* große, mit Bacillus radicicola erfüllte Zellen des Knöllcheninnern. *b* unveränderte Form des Bacillus. *c* Bakteroiden. Vergr. von *a* 650, von *b* und *c* etwa 1300.

Hierauf wenden wir uns an die „Knöllchen“ der Leguminosen, jene gallenartigen Auswüchse, die sich in mehr oder minder starker Zahl und Größe an den Wurzeln, z. B. der Lupine, Erbse, Bohne, Wicke, wie der meisten anderen Leguminosen finden, und deren Bildung auf das Eindringen bestimmter, stickstoffbindender Bodenbakterien, und zwar des Bacillus radicicola, zurückzuführen ist[3]). Wir stellen entweder durch frisches oder Alkohol-Material zarte Schnitte her, am besten in der Richtung senkrecht zur Längsachse des Wurzelteils, dem das Knöllchen ansitzt. Schon bei

[1]) W. D. MILLER, Die Mikroorganismen der Mundhöhle, 2. Aufl., 1892.

[2]) Über die Mundspirochäten vgl. E. HOFFMANN, Deutsch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 10 und 23.

[3]) Über den näheren Bau dieser Knöllchen vgl. u. a. E. WENDEL, Beiträge z. allgem. Bot., herausgeg. v. G. HABERLANDT, Bd. I, 2. Heft, 1916, S. 164. Betr. Artbestimmung der Knöllchenbakterien, vgl. J. VOGEL und ZIPFEL, Zentralbl. f. Bakteriol. usw., 2. Abt., Bd. LIV, 1921, S. 13 ff.

schwacher Vergrößerung zeigt sich da ein großzelliges Gewebe, welches das Innere des Knöllchens einnimmt und nach dem von den Leitbündeln der Wurzel aus Tracheïdenstränge verlaufen. Dieses Gewebe wird dadurch besonders scharf hervorgehoben, daß die zunächst nach außen folgenden Zellschichten bräunlich-gelb gefärbt, ihre einzelnen Zellen ferner dicht mit Inhalt erfüllt sind (Fig. 187 *a*). Dieser besteht der Hauptsache nach aus Individuen des Bacillus radicicola. Hier und da zeigt sich auch der Kern der jeweiligen Zelle als heller, runder Fleck. Bei Anwendung stärkerer Vergrößerungen lassen sich die einzelnen Bakterien in den Zellen erkennen. Sie treten besonders deutlich an Schnitten aus lebendem Material hervor, und zwar da, wo am Rand des Schnittes zufällig einige der großen Zellen geöffnet liegen, die einen Teil ihres Inhalts heraustreten lassen konnten. Auch Schnitte, die man im Wassertropfen des Objektträgers mit Hilfe von Nadeln zerzupfte, zeigen oft die Bakterien sehr deutlich, selbst bei einer relativ geringen Vergrößerung, wie sie sich etwa durch Okular III und Objektiv 7 von *Leitz* erreichen läßt. Man erkennt dann, daß es sich bei diesen „Knöllchenbakterien" um kurze, hier und da etwas gekrümmte Stäbchenformen (Fig. 187 *b*) handelt. Untersucht man die Bakterien aus älteren Knöllchen, so wird man vielfach die Stäbchenform verlassen finden; die Bakterien haben vielmehr verzweigte Gestalten oder sonstige abnorm gebildete „Involutionsformen" angenommen (Fig. 187 *c*), wobei sie sich oft beträchtlich vergrößerten. Es sind das die sog. Bakteroiden, die wohl von der Nährpflanze größtenteils aufgezehrt werden, während die normal gebliebenen Bakterien mit den Wurzelresten im Boden erhalten bleiben, um gegebenenfalls eine Infektion neuer Leguminosensaaten zu bewirken.

Nunmehr wollen wir auch noch die Entwicklungsgeschichte eines Bakteriums, und zwar des Heubazillus, lückenlos zu verfolgen suchen. Wir übergießen zunächst trockenes Heu[1]) mit möglichst wenig Brunnenwasser und lassen den Aufguß 4 Std. lang in einem Wärmeschrank bei der konstanten Temperatur von 36° stehen. Hierauf gießen wir den Aufguß ab, ohne zu filtrieren, und verdünnen ihn, größerer Sicherheit wegen, wenn er zu konzentriert sein sollte, bis zum spez. Gewicht von 1,004. Nunmehr bringen wir die Flüssigkeit in einen Kolben, der über 500 ccm faßt. Der Kolben wird oben mit einem Wattepfropf verschlossen und die Flüssigkeit hierauf 1 Std. lang bei geringer Dampfentwicklung gekocht. Dann bleibt sie bei 36° stehen. Nach Ablauf von 1—1½ Tagen hat sich auf der Oberfläche der Flüssigkeit eine zarte, graue Haut, die Kahmhaut, gebildet; sie besteht aus der Zoogloea von Bacillus subtilis (Ehrb.), dem Heubazillus. Wir haben die Eigenschaft der Sporen dieses Bakteriums, selbst die Siedehitze längere Zeit auszuhalten, benutzt, um eine Art Reinkultur von ihm zu erlangen, die freilich keine volle Sicherheit gegen Verunreinigung mit fremden Keimen bietet. — Von der erhaltenen Kahmhaut übertragen wir ein wenig mit der Platinöse auf den Objektträger und untersuchen das Objekt mit den stärksten Vergrößerungen, die uns zur Verfügung stehen. Wir finden die Kahmhaut aus langen, gegliederten, wellig verlaufenden, parallel zueinander gerichteten Fäden gebildet. Diese

[1]) Nach einer von Roberts und Buchner empfohlenen Methode; vgl. W. Zopf, Die Spaltpilze, Schenks Handb. d. Bot., Bd. III, 1884, S. 57. Dort die ältere Literatur.

verharren größtenteils in ihrer Lage, weil sie durch eine nicht direkt sichtbare Gallerte zusammengehalten werden (Fig. 188 *A*). Die Fäden bestehen aus zylindrischen Stäbchen, die verschieden lang sind, im allgemeinen aber 2—3 mal so lang als breit. Die Substanz der Stäbchen scheint homogen, ziemlich stark lichtbrechend, farblos. Selbst bei stärkster Vergrößerung ist eine anderweitige Struktur nicht zu erkennen. Mit Chlorzinkjodlösung werden die Stäbchen ihrer ganzen Masse nach braungelb gefärbt und sehr deutlich sichtbar. Die Bilder sind schöner als die mit anderen Jodlösungen zu erhaltenden. Dabei erscheinen die Glieder der Fäden im allgemeinen kürzer als im frischen Zustand, weil jetzt alle Grenzen sichtbar werden. Um die Stäbchen scharf hervortreten zu lassen, können wir sie nach der uns schon bekannten Methode mit Fuchsin, Methylviolett, Gentianaviolett oder Bismarckbraun färben und bewahren sie evtl. als Dauerpräparate in Kanadabalsam auf.

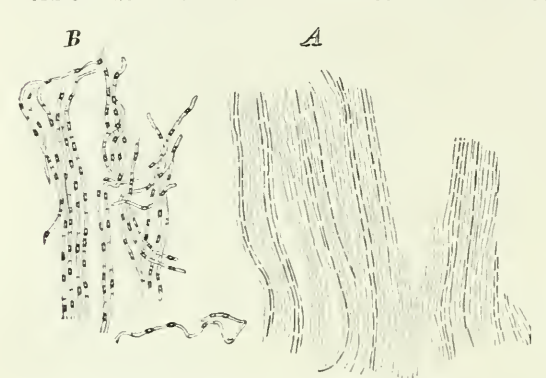


Fig. 188. Bacillus subtilis. *A* Kahmhaut, *B* Sporenbildung. *A* 500, *B* 800 mal vergrößert.

Stellen wir einzelne Partien einer übertragenen Kahmhaut bei etwa 1000-facher Vergrößerung ein, so können wir die Teilung der Stäbchen direkt sehen[1]). Am besten ist es, das betreffende Fadenstück mit Hilfe eines Zeichenapparats in kurzen Intervallen zu zeichnen und die eingetretenen Veränderungen an der Zeichnung zu kontrollieren. Sind noch hinreichende Nährstoffe in der Beobachtungsflüssigkeit vorhanden, so teilen sich die einzelnen Stäbchen alle $^1/_2$—$1^1/_2$ Std. Je höher die Zimmertemperatur, um so schneller die Teilungen. Die Stäbchen nehmen an Länge zu, ohne dünner zu werden; haben sie aber ein bestimmtes Maß erreicht, so tritt in ihrer Mitte eine sich dunkel zeichnende Scheidewand auf. Dieser Teilungsvorgang erklärt die Anordnung der Stäbchen und Fäden; er erklärt auch den welligen Verlauf der Fäden, die interkalar an allen Punkten wachsen und bei verhinderter Längsdehnung sich seitlich krümmen müssen. Aus diesem Grund zeigt schließlich die ganze Kahmhaut eine dem bloßen Auge sichtbare Faltung. — Wir übertragen jetzt ein wenig Kahmhaut in eine feuchte Kammer, um sie im Hängetropfen zu beobachten. Dabei verwenden wir mit Vorteil die schon früher angegebenen, in ihrer Mitte ausgehöhlten Objektträger, oder auch Objektträger, denen ein von einem entsprechend weiten Glasrohr abgesprengter Ring aufgekittet ist, um zunächst nur diese sehr einfachen Kammern zu nennen. Dem sterilisierten Deckglas, das man mit der Cornetschen Pinzette festhält, wird mit der ausgeglühten Platinöse ein Tropfen reines Wasser aufgetupft, das Beobachtungsmaterial in diesen Tropfen übertragen und in ihm verteilt, hierauf das Deckglas umgekehrt und über die ausgehöhlte Stelle des Objektträgers oder auf den Glasring gelegt. Der Ausschliff des Objektträgers wird zuvor mit Vaseline

---

[1]) Vgl. O. Brefeld, Schimmelpilze, Heft IV, 1881, S. 38.

umzogen bzw. diese dem Glasring aufgetragen, so daß die Ränder des Deckglases auf der Vaseline ruhen. Man drückt das Deckglas etwas an, damit der Abschluß vollkommen sei. So ist der Tropfen entsprechend isoliert, seine Verdunstung und etwaige Strömungen in seinem Innern, welche die Bakterien in Bewegung versetzen könnten, zugleich ausgeschlossen. Wir können uns auch der einfachst möglichen, feuchten Kammer bedienen, nämlich eines mäßig dicken, kleinen Papprahmens, dessen inneres Lumen etwas kleiner als der Durchmesser des zu benutzenden Deckglases ist, und dessen äußerer Umriß nicht die Breite des Objektträgers übersteigt. Dieser Rahmen wird in Wasser geworfen, wo er sich vollsaugt, und dann auf den Objektträger gelegt. Ein Deckglas, das man in einer Flamme vorher sterilisiert, erhält hierauf in der Mitte einen flach auszubreitenden Tropfen der Kulturflüssigkeit, in die das zu untersuchende Objekt übertragen wird. Das Deckglas dreht man mit rascher Wendung um und legt es, mit nach unten gekehrtem Tropfen, auf den Papprahmen. Hält die Beobachtung länger an, so bringt man von Zeit zu Zeit einige Tropfen Wasser auf den Papprahmen, damit er nicht austrockne. Unterbricht man die Beobachtung, so kann man das Präparat in einer größeren feuchten Kammer auf passendem Gestell, das in einem mit Wasser halb angefüllten Teller aufgestellt wird, unter einer mit ihren Rändern in das Wasser tauchenden Glasglocke vor Verdunstung schützen. Es läßt sich eine bestimmte Stelle im Präparat später wiederfinden, wenn wir, wie auf S. 129 angegeben, verfahren. Am sichersten geht man jedoch, wenn man einen der S. 39ff. angegebenen „beweglichen Objekttische" oder „Kreuztische" benutzt, die eine langsame Bewegung des Objekts in zwei sich kreuzenden Richtungen durch das Gesichtsfeld des Mikroskops, eine genaue Durchmusterung des Präparats, sowie auch die Notierung jeder Stellung und somit auch das Wiederfinden jedes Punktes in diesem Präparat ermöglichen. — Sind die Nährstoffe des Tropfens annähernd erschöpft, so steht die vegetative Zweiteilung still, und es beginnt die endogene Sporenbildung. Nach Ablauf von 6—8 Std. sind dann in den Fäden, in wenig gleichen Abständen, ellipsoidische, stark lichtbrechende Sporen vorhanden (Fig. 188 *B*). Die Fäden erscheinen im übrigen entleert; nur farblose Hüllen verbinden die Sporen. An einzelnen Stellen des Präparats findet man sicher die Sporen noch in Bildung. Sie zeigen sich als stärker das Licht brechende Substanzansammlungen in dem Verlauf jedes Stäbchens, und zwar meist gegen dessen Mitte. Die Ansammlung wird immer stärker, während sich das Stäbchen entleert, und schließlich ist die Spore vollendet. Läßt man die Kultur einige weitere Std. stehen, so sind die Hüllen der Stäbchen undeutlich geworden, und nach Ablauf eines Tages etwa erscheinen die Sporen frei, auf den Grund des Tropfens gesunken. Mit Anilinwasser-Fuchsin und Methylenblau können wir hier, am besten nach vorausgegangener Chromsäure-Beizung (s. S. 463), sehr schöne Doppelfärbungen von Sporen und Stäbchen erzielen. — Unter ungünstigen Kultur-Bedingungen, wie sie beispielsweise bei relativ zu hohem Zuckergehalt der Lösungen sich einstellen, treten unregelmäßige Anschwellungen und sonst abnorme Gestaltsveränderungen der Zellen, Involutionsformen, auf. — Die Sporen keimen sehr leicht, wenn sie in frische Nährstofflösung übertragen werden: langsamer bei Zimmertemperatur, schneller bei 30°. Am besten ist es, sie 5 Min. lang zu kochen und langsam abzukühlen. Dann kann man schon nach 2—3 Std. die Anfänge der Keimung sehen[1]). Die

[1]) O. Brefeld, l. c. 1881, S. 43.

Sporenmembran wird einseitig geöffnet, der Keimling beginnt hier hervorzutreten und streckt sich allmählich zum Stäbchen aus. Man bezeichnet diese Art der Keimung bei Bakterien als „gekreuzte“ im Gegensatz zur „gleichsinnigen“, wo die Keimung in der Längsrichtung der Spore erfolgt. Der Keimling zeigt sich dabei senkrecht zur Längsrichtung der Spore orientiert. Sein hinteres Ende bleibt in der Sporenhaut stecken. Es vergeht einige Zeit, bis sich das Stäbchen zum erstenmal teilt. In der Zwischenzeit hergestellte Präparate vereinigen alle Keimungsstadien. Meist sieht man die ausgekeimten Stäbchen sich alsbald in Bewegung setzen, sie treten in das Schwärmstadium ein. Ein solches schwärmendes Stäbchen führt an seinem hinteren Ende noch die Sporenhaut mit sich. Die Zahl der Schwärmer wird durch fortgesetzte Teilung immer größer, und sie erfüllen die ganze Flüssigkeit vor Beginn der Kahmhautbildung. Dann erst sammeln sich die Schwärmer an der Oberfläche der Flüssigkeit, kommen hier zur Ruhe und erzeugen die Kahmhaut. Die Schwärmer zeigen ungleiche Länge, werden aber vorwiegend von zwei aneinanderhängenden Individuen gebildet. Sie bewegen sich in ganz charakteristischer Weise „wackelnd“ durch das Gesichtsfeld.

Diese Bewegung wird durch „Geißeln“ vermittelt, die, wie unter Umständen schon Beobachtung von lebenden Schwärmern bei Dunkelfeldbeleuchtung (s. S. 458), jedenfalls aber bestimmt und sehr sorgfältig fixierte und gefärbte Präparate zeigen, dem Bakterienkörper ringsum entspringen. Zur Fixierung und Färbung solcher Geißeln bei den Bakterien empfiehlt sich besonders die Anwendung des Löfflerschen, von A. Fischer[1] etwas abgeänderten Verfahrens. Zunächst ist dafür zu sorgen, daß von dem zu untersuchenden Material, dessen richtigen Entwicklungszustand man unter Mikroskop festgestellt hat, nur wenig auf das Präparat kommt. Die Bakterien sollen nämlich möglichst isoliert liegen, ferner nur wenig Nährbodenteilchen beigemischt enthalten. Man erreicht das leicht, wenn man auf sechs sorgfältig gereinigte (vgl. Reg. IV Deckglas-Reinigung) Deckgläschen je ein Tröpfchen Wasser bringt, etwas Bakterienmaterial ins erste, von diesem eine Spur ins zweite, von diesem wieder etwas ins dritte bringt und so fort. Dann streicht man die Tröpfchen flach aus und läßt eintrocknen, zieht durch die Flamme, vermeidet aber dabei zu starkes Erhitzen. Nunmehr erfolgt Beizen der Präparate mit einer Lösung, die man sich auf folgende Weise hergestellt hat: 2 g möglichst lufttrocknes Tannin wird bei schwachem Erwärmen in 20 ccm Wasser gelöst, 4 ccm Ferrosulfatlösung (1:2), ferner 1 ccm gesätt. alkohol. Fuchsinlösung zugefügt und das Ganze filtriert. Diese Beize läßt man nun auf die Deckgläser auftropfen, erwärmt letztere durch Hin- und Herbewegen über einer schwachheizenden Spirituslampe etwa $^1/_2$ Min. lang, bis sich Dampf zu entwickeln beginnt. Dann wäscht man die Beize mit einer Spritzflasche sorgfältig ab. Nachdem hierauf von dem auf Fließpapier senkrecht aufgestellten Deckglas das meiste Wasser abgelaufen ist, wird konz. wässr. Fuchsinlösung aufgetropft. Man erwärmt mit dieser etwa 1 Min., bis Dampf aufzusteigen beginnt, dann noch etwa $^1/_2$ Min., bis die Lösung 1—2mal aufwallt, dann wäscht man das Deckglas ab und läßt es trocknen. — Um die Geißeln von Bacillus subtilis nachzuweisen, gilt es, nicht allzu junge Kulturen zu wählen. Erst 6—7 Std. nach der Aussaat bei 30° Wärme,

[1] A. Fischer, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXVII, 1895, S. 82; vgl. auch Reg. IV u. R. Abel, l. c. 1922, S. 54, wo noch weitere Geißelfärbungsmethoden angegeben sind.

pflegt die Bewegung der Einzelindividuen wie der Ketten sich allgemeiner einzustellen. Die Keimstäbchen sind noch ohne Geißeln, diese werden erst erzeugt, wenn diese Stäbchen sich durch Teilung vermehrten. Nach entsprechender Behandlung weisen die Schwärmer von Bacillus subtilis zahlreiche Geißeln an ihrer Oberfläche auf, so wie es in der Fig. 189 zu sehen ist[1]). Diese Art der Geißelverteilung wird als peritrich bezeichnet. Anderen Bakterien, so der Gattung Vibrio, kommen dagegen polare, d. h. an den Enden der Stäbchen entspringende Einzelgeißeln, der Gattung Spirillum u. a. polare Geißelbüschel zu. Sie werden als monotrich bzw. lophotrich bezeichnet. Bei Cladothrix-Schwärmern sitzen die Geißelbüschel nicht am Ende, sondern seitlich an den Individuen[2]).

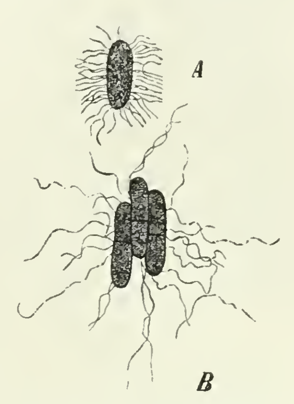


Fig. 189. Bacillus subtilis. Schwärmende Stäbchen mit peritricher Begeißelung. *A* 7¼ Std. nach der Aussaat der Sporen in Heuinfus, *B* 8¾ Std. nach der Aussaat mit vollständig ausgebildeten Geißeln. Vergr. 1500.

Es dürfte uns aufgefallen sein, daß, falls wir Schwärmer von Bacillus subtilis in einem Flüssigkeitstropfen direkt unter Deckglas untersuchten, deren Bewegung alsbald sistiert wurde. Wollen wir nun speziell dieser Erscheinung unsere Aufmerksamkeit zuwenden[3]), so wählen wir mit Vorteil die Schwärmer von den unter der Bezeichnung Bacterium termo zusammengefaßten Fäulnisbakterien (zumeist wohl Bacillus fluorescens liquefaciens[4]) hierzu aus. Fast mit Sicherheit können wir darauf rechnen, Schwärmer solcher Bakterien in Wasser vorzufinden, in dem wir Erbsen oder andere Hülsenfruchtsamen haben faulen lassen. Wir stellen uns leicht geeignete Kulturen dieser Bakterien her, wenn wir einen Tropfen einer solchen Wassermenge entnehmen und ihn in eine passende Nährstofflösung übertragen. Als solche empfiehlt sich in diesem Fall die COHNsche „Normallösung“, die auf 200 ccm Aq. dest. 1 g saures phosphorsaures Kali, 1 g schwefelsaures Magnesium, 2 g neutrales, weinsaures Ammoniak und 0,1 g Chlorkalzium enthält[5]). Die Nährlösungen pflegen in den ersten Tagen milchig-trübe zu werden und erhalten dann ein grünliches Oberflächenhäutchen. Bei mikroskopischer Untersuchung erkennt man stäbchenförmige Zellchen, deren Länge etwa 0,0015 mm beträgt bei einer Breite von $^1/_2$ bis $^1/_3$ ihrer Länge. Sie zeigen sich vielfach in lebhafter Zweiteilung begriffen und daher paarweise, doch kaum zu längeren Reihen verbunden. Die Bewegung ist eine eigentümlich ruckweise hin und hergerichtete. Unbewegliche Individuen erfüllen die Zoogloea, die auf der Oberfläche der Nährlösung schließlich grünlich-schleimige Häute oder Klumpen bildet. Bringen wir Schwärmer dieser Fäulnisbakterien in einen Was-

---

[1]) Diese Figur wurde A. FISCHER, l. c. 1895, entnommen.

[2]) Zur Mechanik der Geißelbewegung und Wirkung äußerer Faktoren auf sie vgl. P. METZNER, Biol. Zentralbl., Bd. XL, 1920, S. 73 ff.; auch Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LIX, 1920, S. 325 ff.

[3]) Vgl. hierzu die Arbeiten von W. ENGELMANN, PFLÜGERS Archiv, Bd. XXV, S. 285; Bd. XXVII, S. 464; Bd. XXIX, S. 387; Bd. XXX, S. 95; Bot. Ztg., XXXIX. Jahrg., 1881, Sp. 441; 1882, Sp. 321, 419, 663; Biolog. Zentralbl., 1886, S. 577.

[4]) Vgl. A. FISCHER, l. c. 1903, S. 174.

[5]) Vgl. E. EIDAM in COHNS Beitr. z. Biol. d. Pfl., Bd. I, 1875, S. 210.

sertropfen unter Deckglas, so hört ihre Bewegung bald auf. Am längsten hält sie um einzelne im Präparat eingeschlossene Luftblasen und an den Rändern des Deckglases an. An letzteren hat sich alsbald eine dicke Schicht von Schwärmern angesammelt, die auch dort allmählich den Luftzutritt abschneidet. So kommen schließlich alle Schwärmer zur Ruhe. Haben wir aber bei Herstellung des Präparats einen grünen Algenfaden in den Tropfen gebracht, so dauert um diesen, solange er vom Licht getroffen wird, die Bewegung der Bakterien an. Sie sammeln sich in großer Zahl um den Faden, und wenn dieser nur an bestimmten Stellen Chromatophoren führt, so werden diese von den Bakterien aufgesucht. Es wirkt hier der von den Chromatophoren ausgeschiedene Sauerstoff als Reizmittel, das die Bewegung der Bakterien veranlaßt und ihre Bewegungsrichtung bestimmt[1]). Die sich ansammelnden Bakterien folgen beispielsweise bei Spirogyra dem grünen Band. Wird das Präparat verdunkelt, so hört die Bewegung auch um die grünen Zellen auf; sie tritt aber sofort wieder ein, wenn diese Zellen vom Licht getroffen werden, somit zu assimilieren und Sauerstoff auszuscheiden beginnen. Es lassen sich daher die Schwärmzustände dieser Bakterien als ein sehr empfindliches Reagens auf Sauerstoff benutzen, und man hat sie verwertet, um bei Anwendung eines Mikrospektralobjektivs (s. Reg. IV) die Stärke der Kohlenstoffassimilation in den verschiedenen Teilen des Spektrums zu messen[2]).

Durch Lösungen bestimmter Stoffe können Schwärmer von Fäulnisbakterien in Kapillaren gelockt werden[3]). Die zu dem Versuch gewählte Flüssigkeit darf nicht zu viel und nicht zu wenig Bakterien enthalten. Man legt ein kleines Deckglas dem Untersuchungstropfen auf, läßt es aber auf Papierstückchen ruhen, damit kein Sauerstoffmangel im Tropfen eintrete, der ein Wandern der Schwärmer nach den Rändern des Deckglases veranlassen würde. Auch sind Wasserströmungen auszuschließen, damit die Resultate rein ausfallen. Sind alle diese Vorsichtsmaßregeln getroffen, und wird nun eine Glaskapillare, die 1-proz. Fleischextrakt- oder 1-proz. Asparagin-Lösung enthält, unter das Deckglas geschoben, so sieht man sofort die der Kapillarmündung nahen Bakterien rascher sich bewegen und nach der Kapillarmündung eilen. Nach $^1/_2$—1 Min. ist bereits eine reichliche Ansammlung von Schwärmern in der Kapillare und um deren Mündung festzustellen; nach 2—5 Min. ist ein förmlicher Pfropf von Bakterien an der Mündung gebildet, der weiterhin wieder infolge der fortgesetzten Diffusion des Nährstoffs an Dichte abnimmt[4]).

Den Kultur-Methoden der Bakterien hat man infolge der theoretischen und praktischen Bedeutung, die sie gewonnen haben, die allergrößte Sorgfalt zugewandt. Diese Kulturen sind ein wesentliches Hilfsmittel für die Bestimmung der Bakterien geworden, die makroskopisch nach der Gestalt, der Art des Wachstums ihrer Kolonien und nach deren oft charakteristischer Färbung sich vielfach leichter als mikroskopisch unterscheiden lassen. Dann hatte es für entwicklungsgeschichtliche Zwecke die größte Bedeutung, solche Kulturen anzulegen, um über den Zusammenhang be-

---

1) Vgl. hierzu W. Pfeffer, Unters. a. d. bot. Inst. zu Tübingen, Bd. I, S. 449 ff.

2) Näheres bei W. Engelmann, Bot. Ztg., XL. Jahrg., 1882, Sp. 419; ferner Ebenda, 1887, Sp. 457; auch in Pflügers Archiv, Bd. XXVII, S. 464 u. Bd. XXIX, S. 415.

3) Weitere Angaben über dieses Verfahren vgl. im XXVI. Abschnitt bei Farnspermatozoiden. S. a. H. Kniep, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLIII, 1906, S. 223.

4) Nach W. Pfeffer, Unters. aus dem bot. Inst. in Tübingen, Bd. I, S. 451.

stimmter Formen sich zu orientieren. Endlich fiel solchen mikroskopischen Kulturen vielfach die Aufgabe zu, das Vorhandensein entwicklungsfähiger Keime in gewissen Medien festzustellen, evtl. auch ihre Zahl zu bestimmen[1]. Die Hauptbedingung für alle diese Untersuchungen ist, daß die Kulturen frei von jeder zufälligen Verunreinigung sind und frei von solchen bleiben; die Herstellung von „Reinkulturen" gestaltete sich damit zu einer der wichtigsten Aufgaben auf diesem Gebiet[2].

Es ist nun die besondere Aufgabe hygienischer Institute geworden, die Methoden der Bakterienkulturen zu vervollkommnen und zu pflegen. Wir wollen uns hier mit einer Orientierung über die Methoden begnügen und sie soweit näher ins Auge fassen, als dies für die botanischen Aufgaben der Bakteriologie sowie der Züchtung niederer Gewächse erwünscht ist. Die Züchtung der Bakterien wurde früher fast ausschließlich in flüssigen Medien vorgenommen; erst durch Robert Koch kam der durchsichtige feste Nährboden allgemein zur Anwendung. Dieser feste, durchsichtige Nährboden wird aus einer gallertartig erstarrenden Substanz, die man mit passenden Nährstofflösungen versetzt, hergestellt. So werden je nach den Bedürfnissen des zu kultivierenden Organismus Nährgelatinen mit Heuinfus, Bierwürze, Fleischextrakt, Peptonlösungen, Blutserum bereitet. Um unseren Heubazillus auf festem Nährboden zu kultivieren, würden wir letzteren aus Heuinfus und Gelatine bereiten; für pathogene Bakterien spielt der mit Pepton-Kochsalz-Bouillon versetzte Nährboden[3] die größte Rolle. Die Nährlösung wird in diesem Fall aus Fleischinfus mit Pepton- und Kochsalzzusatz gewonnen und mit basischem Natriumphosphat oder Natriumkarbonat schwach alkalisch gemacht. Ohne Gelatine wird diese Nährstofflösung als Nährbouillon bezeichnet, mit gewöhnlicher Gelatine verbunden, heißt sie Kochsche Nährgelatine, mit Agar-Agar, Nähragar[4]. Agar-Agar verlangt zu seiner Verflüssigung eine höhere Temperatur als Gelatine, was für Züchtungen bei Brüttemperatur Vorteil gewährt. Auf mit Traubenzucker versetztem Agar-Agar gedeihen die meisten Bakterien gut. Der Botaniker wird die seinen besonderen Zwecken dienenden Nährgelatinen sich selbst herzustellen haben, die für pathogene Organismen üblichen, deren Darstellung besondere Einrichtungen verlangt, besser fertig beziehen. Eine ganze Zahl Anstalten für mikroskopisch-chemischen Bedarf, so unter andern auch die von *Dr. G. Grübler & Co.*-Leipzig, sorgt für solchen Bedarf. Außer Nährgelatine und Nähragar ist auch das in manchen Fällen notwendige, sterilisierte Blutserum käuflich zu erhalten. Diese Nährböden werden nach Wunsch in Röhrchen (Reagenzgläschen), Kölbchen oder auch Kochflaschen geliefert. — Für eine Nährgelatine, die man sich selber herstellt, dürfte die beste Speisegelatine zu verwenden sein. Man zerkleinert sie, gießt auf 100 g, im Sommer auf 150 g, 1 l Wasser, fügt die Nährsubstanzen zu, die man verwenden will, mischt dann und läßt die Gelatine langsam

[1]) Die für bakteriologische Arbeiten notwendigen Apparate und Utensilien lassen sich aus jedem größeren Lager dieser Art beziehen; so z. B. von: *Dr. Hermann Rohrbeck* Nachf.-Berlin, *F. u. M. Lautenschläger*-Berlin, *Vereinigte Lausitzer Glaswerke*-Berlin, *E. Leitz*-Berlin, *Franz Hugershoff*-Leipzig, *C. Gerhardt*-Bonn, *Dr. Geißler* Nachf.-Bonn.

[2]) Über die bei Bakterien mit ganz besonderen Ansprüchen an das Nährsubstrat anzuwendenden Kulturmethoden vgl. E. Küster, Kultur der Mikroorganismen, 3. Aufl., 1921 S. 67 ff.; F. Löhnis, Landwirtsch. bakteriol. Praktikum, 2. Aufl., 1920, S. 65 ff. und R. Abel, l. c. 1922, S. 28 ff. S. a. Reg. IV Bakterien-Kultur.

[3]) Fr. Löffler, Mitt. Kais. Gesundheitsamt, Bd. I, 1881, S. 27 und 169.

[4]) Über Nährgelatine bzw. Nähragar bei Reinkulturen von Algen s. S. 402, 430.

quellen. Ist dies geschehen, so setzt man in ein Wasserbad von 40—50° ein, wo eine vollständige Verflüssigung der Gelatine erfolgen muß. Hierauf wird durch Zusatz einer gesätt. Lösung von Natriumkarbonat zu dieser Lösung eine mit Lackmus nachweisbare, deutliche, aber sehr schwache alkalische Reaktion, die fast alle Bakterien, im Gegensatz zu den Pilzen, verlangen, erzielt und das Gefäß mit der Lösung 20 Min. lang auf dem Wasserbad erwärmt. Zu langes Erhitzen verträgt die Gelatine nicht; sie bleibt dann dünnflüssig. Es gilt dann, die Lösung durch eine doppelte Lage von Fließpapier zu filtrieren und in gut gereinigte sog. Erlenmeyersche Kölbchen

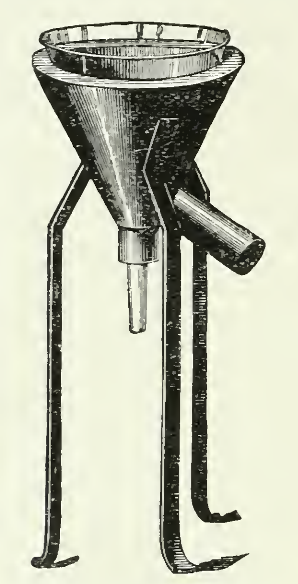


Fig. 190. Doppelwandiger Warmwasser-Trichter.



Fig. 191. Dampftopf.

einzufüllen. Um das Erstarren der Gelatine beim Filtrieren zu verhindern, werden vielfach besondere doppelwandige Warmwassertrichter (Fig. 190)[1]) benutzt. Sollte das Filtrat nicht genügend klar geworden sein, so fügt man zu der auf 30° abgekühlten Gelatine das Weiße eines Hühnereies, schüttelt einige Zeit kräftig um, erhitzt dann 50—60 Min. in einem kochenden Wasserbad oder besser noch in einem auf 100° angeheizten Dampftopf, kontrolliert wieder mit Lackmus auf schwach alkalische Reaktion, die, falls nicht mehr vorhanden, durch nochmaligen Zusatz von Natriumkarbonat-Lösung erzielt werden muß, und filtriert dann noch einmal. Die Nährgelatine wird jetzt völlig klar sein. Der zur Anwendung kommende Dampftopf (Fig. 191)[2]) besteht aus einem mit Filz, Asbest oder dergl. umkleideten Zink- oder Weißblechzylinder, in dessen unteres Ende ein kupferner Wasserkessel eingelassen ist. Über diesem Kessel befindet sich ein Rost, auf den die zu erhitzenden Gegenstände gestellt werden. Der stumpf-kegelförmige Deckel, der den Zylinder oben verschließt und ein Thermometer in sich

[1]) Von allen einschlägigen Geschäften zu beziehen, u. a. von *Bartsch, Quilitz u. Co.*-Berlin, die für Trichter aus Kupfer 350 M, für Trichter aus Weißblech 240 M berechnen.

[2]) Bei *Bartsch, Quilitz u. Co.*-Berlin, Dampftopf aus Bleiblech (35 × 25 cm) zu 1700 M zu beziehen; auch von *Dr. Herm. Rohrbeck* Nachf.-Berlin erhältlich.

faßt, liegt lose in einer Rinne auf. Die Heizung geschieht durch eine von unten her wirkende Flamme. Die geklärte Gelatine verteilt man nun zu späterem Gebrauch auf Reagenzgläschen. Letztere müssen gut gereinigt und trocken sein; ihre Sterilisierung braucht aber erst nach ihrem Beschicken zu erfolgen[1]). Man gießt die Gelatine in die Reagenzgläser ein, und zwar ca. 8 ccm, etwa so viel, daß höchstens ein Drittel des Innenraums von ihr eingenommen wird, vermeide dabei, deren obere Teile zu befeuchten, sonst klebt dort später der den Verschluß bewirkende Wattepfropf fest. Ist die Gelatine eingefüllt, so verschließt man die Gläser mit den Wattepfropfen, die am besten aus gleichmäßigen, ungefähr 3 Finger-langen Wattestreifen anzufertigen sind. Man schiebt sie etwa 2—3 cm tief in die Reagenzgläser hinein und formt aus dem überstehenden Teil einen Bausch, der den Reagenzglasrand vollkommen bedeckt. Dann geht man erst zur Sterilisierung des Ganzen über. Zu diesem Zweck gelangen die Reagenzgläser wieder in den Dampftopf. Sie bleiben 15—20 Min. lang bei 100° dem Dampf ausgesetzt. Das gleiche hat man 3 Tage hintereinander zu wiederholen, wodurch man erreicht, daß auch die etwa vorhandenen Sporen, die inzwischen Zeit zum Auskeimen hatten, getötet werden. Diese Methode der diskontinuierlichen Sterilisierung gestattet es, mit verhältnismäßig nicht so hohen Temperaturen und kürzerer Einwirkungszeit vollkommene Resultate zu erzielen.

Viele Nährstoffe vertragen so hohe Temperaturen, wie sie eben in Anwendung kamen, nicht, ohne verändert zu werden. Um sie zu sterilisieren, wird die diskontinuierliche Erwärmung bei weniger hoher Temperatur etwa 8 Tage hintereinander, jedesmal 1—2 Std. vorgenommen (fraktionierte Sterilisation)[2]).

Die Sterilisierung von Flüssigkeiten ist auch durch Filtration versucht worden. Die besten Erfolge hat man bis jetzt durch Anwendung der Chamberlandschen oder anderer Porzellanfilter erzielt, bei denen die Flüssigkeit unter Druck einen Zylinder von Biskuitporzellan zu passieren hat. Den mit sterilisierter Nährstofflösung beschickten Gefäßen, die nicht gleich zur Verwendung kommen, wird man mit Vorteil Gummikappen aufsetzen, um ein Eindringen von Pilzhyphen, die, hinreichende Feuchtigkeit vorausgesetzt, den Wattepfropf durchwachsen könnten, zu verhindern. Einige Tropfen Sublimatlösung auf dem Wattepfropf tun denselben Dienst. Für Bakterien selbst ist der Wattepfropf undurchdringlich.

Bei Herstellung von Nähragar wird das Agar-Agar nur in Mengen von 1—2 % dem Wasser zugesetzt. Das Agar löst sich erst in kochendem Wasser, die Gallerte erstarrt schon etwa bei 40°; es kommt dieser Nährboden daher vornehmlich dort in Betracht, wo es gilt, Bakterien bei höherer Temperatur, etwa bei Brüttemperatur, zu züchten. Da das Agar sich nur langsam löst und nur schwer filtriert, so muß die Lösung sehr lange gekocht und das Filtrieren in dem schon geschilderten Dampftopf oder besser noch unter Druck in einem solchen mit hermetisch verschließbarem Deckel, einem sog. Autoklaven[3]) (Fig. 192), vorgenommen werden. (S. a. Reg. IV Filtrieren.) Man kann auch das Filtrieren umgehen, indem man das Nähragar innerhalb des Dampftopfs in einem möglichst hohen und schmalen, mit Pergamentpapier oder Glasstopfen gut verschlossenen Zylinder zunächst

---

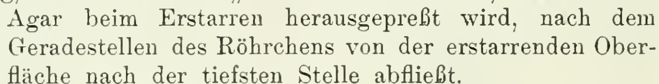
[1]) So empfiehlt es C. Günther, Einführung usw., 6. Aufl., 1906, S. 192.

[2]) Vgl. R. Abel, l. c. 1922, S. 8.

[3]) Bei *C. Gerhardt* je nach Größe und Arbeitsdruck 3000—10 000 M.

1 Std. lang dem strömenden Wasserdampf, dann $^1/_2$—1 Tag einer Temperatur von 50—60 ° aussetzt. Die Lösung klärt sich dann derart, daß sie ohne weiteres die Verwendung zuläßt[1]).

Eine Anzahl von Bakterien gedeiht besser auf dem Nährgelatine- und dem Nähragarboden, wenn ihm 4—6 % Glyzerin zugesetzt wurde. Auch bei Nährbouillon ist dieser Zusatz von Glyzerin oft erwünscht[2]). Da das Agar nicht peptonisierbar ist wie die Gelatine, so wird es im Gegensatz zu dieser durch Bakterien, welche die Gelatine auflösen, nicht verflüssigt. Oft zieht man vor, sowohl Gelatine wie Agar im Reagenzglas bei schräger Lage erstarren zu lassen; es wird auf diese Weise eine größere Fläche für die Kultur gewonnen. Für Nähragar hat dieses schräge Erstarren auch noch die Bedeutung, daß alsdann das „Kondensationswasser", das aus dem



Agar beim Erstarren herausgepreßt wird, nach dem Geradestellen des Röhrchens von der erstarrenden Oberfläche nach der tiefsten Stelle abfließt.

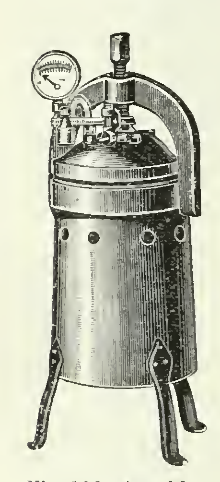
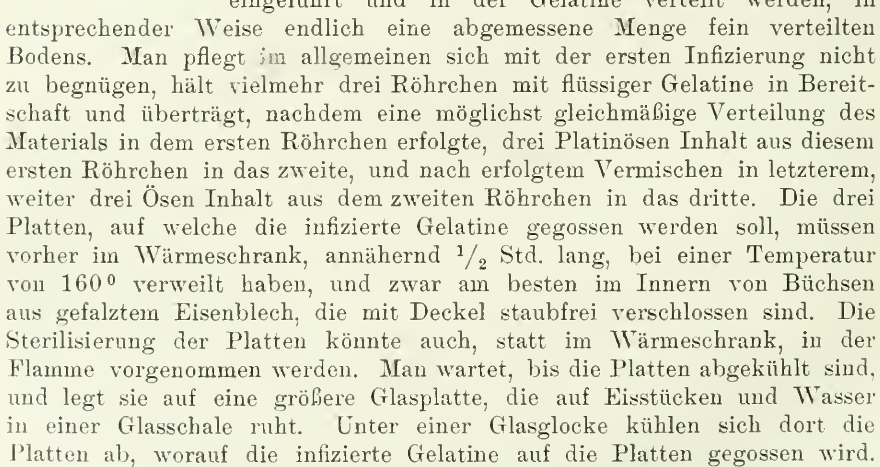


Fig. 192. Autoklav von *C. Gehrhardt*, Bonn.

Zwecks Herstellung von **Plattenkulturen** wird die Gelatine in den Reagenzgläsern infiziert. Man erwärmt zu diesem Zweck das Reagenzglas, „Gelatineröhrchen", im Wasserbad bei 30—35 °, wobei die Gelatine flüssig wird, und nimmt dann den Wattepfropf heraus. Der Rand des Gläschens wird in der Flamme abgeglüht, um dort etwa anhaftende, aus der Luft stammende Keime zu entfernen. Die Gelatine wird hierauf „infiziert", je nach der Menge von Material, die man in die Gelatine bringen will, mit einem geraden Platindraht oder einer Platinöse, die man durch Glühen sterilisierte. Sie benutzt man auch, um das Material möglichst gleichmäßig mit der Gelatine zu vermischen, wobei man zweckmäßig das Röhrchen nach verschiedenen Seiten neigt und dreht, nicht aber schüttelt. Auch eine bestimmte Menge zu untersuchenden Wassers oder von Milch kann mit sterilisierter Pipette eingeführt und in der Gelatine verteilt werden, in



entsprechender Weise endlich eine abgemessene Menge fein verteilten Bodens. Man pflegt im allgemeinen sich mit der ersten Infizierung nicht zu begnügen, hält vielmehr drei Röhrchen mit flüssiger Gelatine in Bereitschaft und überträgt, nachdem eine möglichst gleichmäßige Verteilung des Materials in dem ersten Röhrchen erfolgte, drei Platinösen Inhalt aus diesem ersten Röhrchen in das zweite, und nach erfolgtem Vermischen in letzterem, weiter drei Ösen Inhalt aus dem zweiten Röhrchen in das dritte. Die drei Platten, auf welche die infizierte Gelatine gegossen werden soll, müssen vorher im Wärmeschrank, annähernd $^1/_2$ Std. lang, bei einer Temperatur von 160 ° verweilt haben, und zwar am besten im Innern von Büchsen aus gefalztem Eisenblech, die mit Deckel staubfrei verschlossen sind. Die Sterilisierung der Platten könnte auch, statt im Wärmeschrank, in der Flamme vorgenommen werden. Man wartet, bis die Platten abgekühlt sind, und legt sie auf eine größere Glasplatte, die auf Eisstücken und Wasser in einer Glasschale ruht. Unter einer Glasglocke kühlen sich dort die Platten ab, worauf die infizierte Gelatine auf die Platten gegossen wird.

[1]) P. Miquel, Ann. de l'Observ. de Montsouris, 1885, p. 570.
[2]) C. Günther, l. c. 1906, S. 201.

Man kann auch die Platten im Wärmeschrank sich langsam abkühlen lassen und sie ihm nach Bedarf entnehmen. Die Platten pflegen 13 cm lang und 8 cm breit zu sein; der Rand muß auf etwa 1 cm von der Gelatine frei bleiben. Die Gelatine ist möglichst gleichmäßig auf den Platten zu verteilen, was mit Hilfe des Randes des Gelatineröhrchens erfolgt, den man demgemäß vor dem Ausgießen der Gelatine noch einmal glühen soll. Die Gelatine muß sofort erstarren. Man pflegt die Platte, die den Inhalt des zuerst infizierten Röhrchens, des „Originals" empfing, mit 0, die Platte, welche die erste Verdünnung aufnahm, mit I, die, welche die zweite Verdünnung enthielt, mit II zu bezeichnen. Diese Platten werden auf passenden Bänkchen unter Glasglocken mit Einhaltung der notwendigen Vorsichtsmaßregeln untergebracht. Die Gelatine auf der Originalplatte pflegt sich bei Zimmertemperatur schon nach 24 Std. zu trüben. In den nächsten Tagen werden sowohl auf der Originalplatte, wie meist auch auf den mit den Verdünnungen beschickten Platten die einzelnen Bakterienkolonien makroskopisch sichtbar. Auch treten bald Unterschiede im Verhalten der einzelnen Kolonien hervor, und zwar in ihrer Gestalt, ihrer Färbung, in der nicht erfolgenden oder in größerem oder geringerem Grade erfolgenden Verflüssigung der Gelatine. Um bei starken Vergrößerungen die Kolonien einer solchen Platte untersuchen zu können, muß man ein Deckglas der zu untersuchenden Stelle auflegen. Man hebt auch wohl das aufgelegte Deckglas wieder ab, um an ihm einen Abklatsch der oberflächlichen Kolonien zu erhalten. Diesen behandelt man dann weiter wie ein Deckglaspräparat, und bezeichnet ihn auch als Abklatschpräparat. Mit der Darstellung von Abklatschpräparaten darf natürlich nicht gewartet werden, bis die Gelatine durch die Bakterien verflüssigt ist.

Statt einfacher Glasplatten verwendet man meist für die Gelatinekulturen flache, mit übergreifendem Deckel verschließbare Schälchen, sog. Petrischalen[1]). In diese wird unter Einhaltung derselben Vorsichtsmaßregeln, wie bei den soeben behandelten Plattenkulturen, die infizierte Gelatine eingegossen.

Bei den sich im Laufe der Zeit auf der Gelatine entwickelnden Bakterienkolonien ist man nicht sicher, ob jede aus einem Bakterium und nicht aus mehreren entstanden ist. Wünscht man mit Sicherheit Kulturen aus einer Bakterienzelle (Ein-Zellkulturen) zu erhalten, so wendet man zweckmäßig das Burrische Tuscheverfahren an[2]). Man stellt sich zunächst eine sterile Tuscheemulsion her, indem man am besten Pelikantusche 541 von *Dr. Grübler & Co.* im Verhältnis von 1 : 9 mit Aq. dest. verdünnt, je 10 ccm davon in Reagenzgläser einfüllt, im Dampftopf oder Autoklaven sterilisiert und 2 Wochen stehen läßt. Beim Gebrauch entnimmt man mit einer großen, nach dem Abglühen in sterilem Wasser abgespülten Platinöse[3]) 4 einzelne Tropfen von der Oberfläsche dieser Tusche und bringt sie auf einen fettfreien, sterilen Objektträger. Man trägt nun von dem zu untersuchenden Bakterienmaterial schnell ein wenig in den ersten Topf ein, überführt dann mit einer kleinen Platinöse etwas von diesem Tropfen in den zweiten, von diesem in den dritten usf. Vom vierten Tropfen macht

---

[1]) Aus den einschlägigen Geschäften zu beziehen.

[2]) Vgl. R. Burri, Das Tuscheverfahren, Jena 1909, und Zentralbl. f. Bakteriol., 2. Abt., Bd. XX, 1908, S. 95; s. a. P. Lindner, Ebenda, S. 342; R. Abel, l. c. 1922, S. 27.

[3]) Auch Ösen aus dem nicht so kostspieligen Chromnickeldraht lassen sich mit Vorteil verwenden. Vgl. S. 457, Anm. 1.

man dann auf einer gut erstarrten Gelatineplatte in der PETRIschale mit einer in der Flamme stark, aber nicht bis zum Glühen erhitzten und wieder abgekühlten Zeichenfeder mehrere Reihen Punkte, die man nach $^1/_2$ Min. mit einem sterilen Deckglas bedeckt und unter Mikroskop mit starkem Trockensystem untersucht. Es erscheinen da die Bakterien helleuchtend zwischen den schwarzen Tuschepartikeln. Die Tuschepunkte, in denen nur eine Bakterienzelle liegt, bezeichnet man auf der Unterseite der Schale, läßt die Bakterien zu Kolonien auswachsen, hebt dann vorsichtig das Deckglas ab und impft nun von dieser aus einer Zelle entstandenen Kolonie ab. Will man die Kultur auf anderem Nährboden als Gelatine durchführen, so bedeckt man die auf der Gelatineplatte gemachten Tuschepunkte mit je einem sterilen Deckglassplitter, hebt die Splitter, unter denen sich bei mikroskopischer Untersuchung nur ein Bakterium zeigt, ab und überträgt sie auf oder in beliebige Nährböden, was leicht zu bewerkstelligen ist, da beim Abheben von der Gelatineplatte Tusche und Bakterien fest an dem Glasstückchen haften.

Im übrigen nimmt man auch sonst vielfach die Infektion der Gelatine, besonders von Agar-Agar, erst in der PETRIschale vor. Man öffnet zu diesem Zweck die Schale ein wenig an einer Seite und impft nun mit dem Platindraht oder der Platinöse. W. KRUSE empfiehlt dazu einen Platinpinsel und führt mit ihm, indem er über das Nähragar in der Schale streicht, die Impfung eines Drittels ihrer Fläche aus. Dann wird der Platinpinsel geglüht, über die zuvor infizierte Fläche gestrichen und mit ihm das zweite Drittel der Fläche geimpft und von dieser endlich, in ganz entsprechender Weise, das letzte Drittel. So wird eine ungleiche Verteilung der Keime in den verschiedenen Teilen der Kulturschale erreicht. Mikroskope, die eine gleichmäßige Durchforschung einer PETRIschale gestatten sollen, müssen mit besonders großen Objekttischen ausgestattet sein. Da Nähragar erst bei Siedewärme des Wassers ganz flüssig wird, so muß man es durch Eintauchen in warmes Wasser bis auf etwa 42° abkühlen, bevor man es, ohne Gefahr für das Leben der zu untersuchenden Keime, mit diesen infizieren kann. Dann gilt es aber, rasch die infizierte Lösung in vorher leicht angewärmte PETRIschalen zu gießen, nicht auf Glasplatten, da das Agar schlecht am Glas haftet. Da aus dem Agar beim Erstarren Wasser austritt, der Deckel auch sonst bei Temperaturveränderungen beschlägt, so ist es angezeigt, damit keine Schädigung der Kultur durch Wasser erfolge, die Schalen bis zur mikroskopischen Untersuchung umgekehrt, mit dem Deckel nach unten zu halten. Um das Beschlagen der Agarkulturen überhaupt zu vermeiden, ist es gut, eine Anzahl solcher umgekehrter Schalen auf eine mit trockenem Fließpapier bekleidete Glastafel zu stellen, ein Becherglas überzustülpen und sie so in den Brütschrank zu bringen[1]).

Die Kulturen auf Platten oder in PETRIschalen bilden den Ausgangspunkt für die Reagenzglaskulturen. Man entnimmt unter dem Mikroskop mit der Spitze des ausgeglühten Platindrahtes einer ganz bestimmten Kolonie der Platte eine Spur des zu übertragenden Materials. Das zu infizierende Gelatineröhrchen hält man mit der Öffnung nach unten, entfernt mit drehender Bewegung den Wattepfropf und führt nun von unten in die Höhe, je nach der vorhandenen Absicht, entweder einen „Impfstich" oder

---

[1]) Vgl. L. HEIM, Lehrbuch der Bakteriologie, 5. Aufl., 1918, S. 130.

einen „Impfstrich" in der Gelatine aus. Im ersten Fall sticht man hinab bis fast auf den Boden des Gläschens, im zweiten macht man einen dünnen Strich an der Oberfläche der Gelatine.

Ebenso wie für Kulturen in Gelatineröhrchen können die Gelatineplatten den Ausgangspunkt für Kulturen in hängenden Tropfen innerhalb von feuchten Kammern, in flüssigen Nährstofflösungen innerhalb größerer Gefäße, oder auf einem bestimmten, sterilisierten, festen Substrat abgeben. Bei letzterem spielen Kartoffelstückchen die Hauptrolle. Da die Kartoffelstückchen meist schwachsaure Reaktion zeigen, so ist es für manche Zwecke nötig, sie vor dem Sterilisieren in 1-proz. Sodalösung etwa 15 Min. zu tauchen. Falls erwünscht, können die Kartoffelstückchen durch Einlegen in verd. Essigsäure auch sauer gemacht werden[1]). Sterilisiert werden Kartoffelstückchen am besten in nach unten sich verengenden Röhren, deren Boden sie nicht erreichen. So kommen sie mit dem sich bildenden Kondenswasser nicht in Kontakt. Die Sterilisierung erfolgt im Dampftopf, dessen Hitze sie an drei aufeinanderfolgenden Tagen je $^1/_2$ Std. lang auszusetzen sind. Die Röhrchen hat man genau so wie beim Sterilisieren der Gelatine mit Wattepfropf verschlossen. Um bei allen derartigen Arbeiten die Infizierung des sterilisierten Gegenstandes durch die Hände auszuschließen, empfiehlt es sich, letztere zunächst mit Seife und Bürste in warmem Wasser und hierauf in 90-proz. Alkohol, endlich in $1^0/_{00}$-Sublimatlösung[2]) sorgfältig zu reinigen. Auch hat man zum Desinfizieren der Hände Kresolseifenlösung 1% empfohlen, ferner Kaliumpermanganatlösung (45 ccm Acid. hydrochloric. pur (reine Salzsäure 25%) des deutsch. Arzneibuches mit 1600 ccm Wasser gemischt, dann 500 ccm einer 4-proz. Kaliumpermanganatlösung zugesetzt). Die Desinfektionskraft der letzten Lösung übertrifft die anderen genannten, doch färbt sie die Hände dunkelbraunrot. Durch 1,3-proz. Oxalsäurelösung kann die Entfärbung der Haut wieder bewirkt werden. Da die Lösung metallene und emaillierte Gefäße auf die Dauer stark angreift, so sind Gefäße aus Holzfaserstoff o. ä. zu verwenden[3]).

Die geimpften Gefäße und die Klammern mit den geimpften Glasplatten werden entweder, vor Staub geschützt, bei Zimmerwärme gehalten, oder der Einwirkung einer höheren Temperatur, meist einer solchen von 35—38°, der Brüttemperatur, ausgesetzt. Für die Kultur bei höheren Temperaturen dienen doppelwandige, außen mit Filz oder Asbest bekleidete Kästen aus starkem Kupferblech, sog. Brütschränke oder Vegetationskästen, die mit Hilfe von Thermoregulatoren die Herstellung konstanter Wärmegrade zulassen. Da direktes Sonnenlicht einen schädigenden Einfluß auf die meisten Bakterien ausübt, so müssen die Bakterienkulturen unter allen Umständen vor diesem Einfluß bewahrt bleiben.

Will man besonders gut gelungene Kulturen dauernd erhalten, so geschieht das am besten mit Hilfe von Formalin[4]). Man braucht nur unter eine Glasglocke, die Plattenkulturen deckt, ein Schälchen mit einigen ccm frischen Formalins zu stellen. Die Kulturen werden alsbald fixiert,

---

[1]) C. Günther, l. c. 1906, S. 211.

[2]) Aus 1 T. Sublimat, 5 T. Salzsäure und 1000 T. Wasser. Man stellt diese Säure-Sublimatlösung am zweckmäßigsten durch Verdünnung einer Stammflüssigkeit, und zwar 20 g Sublimat in Salzsäure bis zum Gesamtvolumen von 100 ccm gelöst, her. Man nimmt von dieser Stammlösung 5 ccm, fügt Leitungswasser hinzu, bis das Gesamtvolumen 1 l beträgt, und hat so die gebrauchsfertige $1^0/_{00}$-Lösung.

[3]) Th. Krönig und B. Paul, Zeitschr. f. Hyg., Bd. XXV, 1897, S. 84.

[4]) G. Hauser, Münch. med. Wochenschr., 1893, S. 567 u. 655.

und die Gelatine so verändert, daß sie durch Hitze nicht mehr erweicht werden kann. Trüb gewordene Stellen werden wieder klar, durch die Bakterien verflüssigte, fest. Die so fixierten Platten lassen sich dann in Glasgefäßen aufbewahren, in denen aber die Luft feucht zu halten ist. Den Deckel von PETRIschalen, in welchen man den Gelatine- oder Agarguß fixieren will, belegt man mit Fließpapier, auf das man 10—15 Tropfen Formalin gießt. — Eine Konservierung von Plattenkulturen läßt sich auch dadurch erreichen, daß man auf die vorher am besten in Formoldämpfen gehärtete Platte eine dünne Schicht von Glyzerin-Agar aufgießt. Dieses besteht aus 2-proz., gut gewässertem und filtriertem Agar und Glyzerin zu gleichen Teilen und ist jedesmal vor dem Aufgießen durch Erwärmen bis 45° zu verflüssigen[1]. — Bei Reagenzglaskulturen befeuchtet man den Wattepfropfen an seinem unteren Ende mit 8—10 Tropfen Formalin.

[1]) E. G. HASTINGS, Zentralbl. f. Bakteriol., 2. Abt., Bd. XXXIV, 1912, S. 432.

XXII. Abschnitt.

Fortpflanzung der Algen.

Mittel, um die Bildung von Schwärmsporen oder Geschlechtsprodukten bei Algen zu veranlassen. Festhalten kleiner Organismen zu Beobachtungszwecken. Fixierung und Färbung der Kerne, Schwärmsporen und Geschlechtsprodukte. Fixierung und Weiterbehandlung kleiner Objekte. Parthenogenese. Merogonie.

Untersuchungsmaterial.

Kopulierende Spirogyren, frisch, evtl. mit 1-proz. Chromsäure fixiert und in Wasser, dem etwas Kampfer zugesetzt wurde, aufbewahrt. Cladophora glomerata, frisch. Vaucheria sessilis, die terrestre Form, besser noch die in fließendem Wasser lebende, frisch. Für Schwärmsporenbildung sind Cladophora und Vaucheria tags zuvor zu sammeln und in flache Schalen mit Wasser zu legen; Geschlechtsorgane von Vaucheria sind an 8 Tage alten Kulturen in 2—5-proz. Zuckerlösung zu erlangen.

Protosiphon botryoides und Botrydium granulatum in verschiedenen Entwicklungszuständen, frisch. Ulothrix zonata, frisch. Geschlechtsreifer Fucus vesiculosus frisch. Batrachospermum moniliforme, fruktifizierend, im Spätsommer zu sammeln, frisch oder in Alkohol fixiert.

Wichtigste Reagentien.

Jodjodkaliumlösung. Evtl. 1-proz. Osmiumsäure und Bealescher Karmin.

Nachdem wir uns im Vorigen mit dem inneren Bau der vegetativen Organe höherer und niederer Pflanzenformen bekannt gemacht haben, wollen wir uns jetzt den Fortpflanzungsorganen zuwenden und schlagen hierbei den umgekehrten Weg ein, indem wir, an die Bakterien anschliessend, deren verschiedene Entwicklungsstadien wir schon im letzten Abschnitt studiert haben, von den einfachsten Gruppen der Organismen zu den höchsten fortschreiten wollen. Wir wenden uns zunächst der Betrachtung der ungeschlechtlichen und der geschlechtlichen Vermehrung der Algen zu.

Man hat oft Gelegenheit, in Kopulation begriffene Spirogyren zu finden (Fig. 193). Sie fallen schon im Freien durch das krause Aussehen der zusammenhängenden Fadenmassen auf. Der Kopulationsvorgang läßt sich leicht verfolgen, doch darf man die Fäden nicht direkt auf dem Objektträger mit dem Deckglas überdecken; man hat sich vielmehr einer kleinen feuchten Kammer, etwa des S. 469 beschriebenen Papprahmens zu bedienen, wo die Spirogyren in dem am Deckglas hängenden Tropfen untersucht werden können.

Die Kopulation der Spirogyren erfolgt bei den meisten Arten leiterförmig (Fig. 193), d. h. je zwei einander gegenüberliegende Fäden sind durch quere Brücken vereinigt. Die Zellen haben kurze, stumpfe Fortsätze getrieben, die aufeinander trafen und miteinander verschmolzen sind. Die Ursache, welche die Bildung dieser Fortsätze und ihr Aufeinandertreffen bewirkt, ist eine chemische Reizwirkung. Es können durch sie auch Krümmungen veranlaßt werden, durch welche ursprünglich nicht gleichgerichtete Fäden in die richtige Lage gelangen[1]). In manchen Fällen ist schon vor der Kopulation zu unterscheiden, welcher Faden der männliche und welcher der weibliche ist, da die Zellen des letzteren sich tonnenförmig angeschwollen zeigen. Nach erfolgter Vereinigung der Kopulationsfortsätze pflegt in der männlichen Zelle zuerst der Inhalt sich abzurunden und schließlich allseitig von der Zellwand zurückzuziehen. Dann wandert er in den Kopulationskanal ein und passiert dessen mittlere Scheidewand, die inzwischen erweichte. Der weibliche Protoplast hat sich gleichzeitig abgerundet oder rundet sich beim Vordringen des männlichen ab. Beide treten in Berührung und sind nach wenigen Minuten verschmolzen. Ihr Inhalt vermischt sich. Die so entstandene Zygote beginnt alsbald sich zusammenzuziehen; nach Verlauf von 1 Std. ist ihr Saftraum vollständig verschwunden. Ein neuer bildet sich erst nach 24 Std. wieder aus. Eine deutlich doppeltkonturierte Membran deckt dann die Zygote.

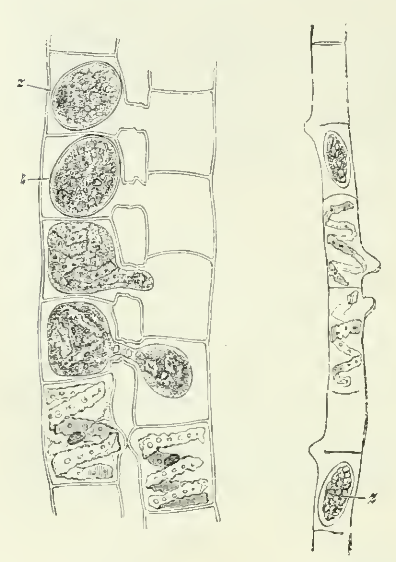


Fig. 193. Fig. 194.

Fig. 193. Kopulation von Spirogyra quinina. Vergr. 240.

Fig. 194. Kopulation von Spirogyra longata. In beiden: *z* Zygosporen. Vergr. 240.

So viel ist ohne Reagentien zu sehen. Fixiert man aber das Objekt während der Kopulation, etwa mit 1-proz. Osmiumsäure, und läßt es in sehr verd. Glyzerin, das sich, frei an der Luft stehend, eindickt, allmählich durchscheinend werden, so kann man feststellen, daß die beiden Zellkerne der kopulierenden Zellen nach deren Vereinigung sich einander nähern und schließlich verschmelzen. Der während der Kopulation sich entleerende Faden ist der männliche; der andere, weibliche, nimmt die Zygosporen auf. Nur die Chlorophyllbänder der weiblichen Zelle bleiben erhalten; die der männlichen zerfallen in schließlich verschwindende Stücke[2]). Die reife Zygospore besitzt eine dicke Haut, die mehrere Schichten aufweist, von denen die äußere und die innere aus farbloser Zellulose, die mittlere aus Zellulose

[1]) G. Haberlandt, Sitzber. K. Akad. Wiss. Wien, Math. - Nat. Kl., Bd. IC, Abt. 1, Juni 1890.

[2]) V. Chmielevsky, Bot. Ztg., XLVIII. Jahrg., 1890, S. 773, 774; ferner A. Tröndle, Bot. Ztg., LXV. Jahrg., 1907, S. 187.

besteht, die durch korkähnliche Inkrustationen braun gefärbt erscheint[1]). Im Innern der Zygospore fallen zahlreiche Fettropfen auf, sowie rote bis rotbraune Schleimkugeln. An geeignet fixiertem und gefärbtem Material (vgl. Reg. IV Spirogyra-Zygoten) läßt sich feststellen, daß aus dem Kopulationskern in der Zygote, je nach der Spirogyra-Art früher oder später, durch zwei eine Reduktion der Chromosomenzahl bewirkende Teilungsschritte vier Kerne hervorgehen. Von diesen degenerieren drei, während der vierte die Weiterentwicklung fortsetzt[2]).

Neben solchen Formen, bei denen, wie bei der vorhin geschilderten, die Fäden entweder nur männliche oder nur weibliche Zellen enthalten, gibt es auch solche, welche beide Geschlechter in sich fassen. Bei manchen Arten läßt sich dabei Zygotenbildung durch Kopulation aufeinanderfolgender Zellen desselben Fadens (Fig. 194) beobachten (Paedogamie)[3]), wobei eine regelmäßige Abwechslung von männlichen und weiblichen Zellen konstatiert werden kann. Auch entwickeln sich nicht selten Parthenosporen, indem sowohl männliche, wie weibliche Zellen, die sich zur Kopulation anschickten, diesen Vorgang nicht durchführen, sich vielmehr kontrahieren, mit Membran umgeben und Reservestoffe speichern[4]), um später auszukeimen.

Spirogyren, die man in Kultur hat, können besonders leicht in der Zeit von Mitte Februar bis Anfang Mai zur Kopulation veranlaßt werden. Man bringt zu diesem Zweck die Kultur in 2—4-proz. Rohrzuckerlösung in sonnige Lage. Dasselbe erreicht man in der Sonne mit Pflanzen, die sich in nur wenig Wasser befinden. Ist die Neigung zur Kopulation ausgelöst, so kann letztere auch auf einer Glasplatte in einer $^1/_2$-proz. Agar-Agar-Gallerte erfolgen. Da die Fäden ihre Lage in der Gallerte nicht verändern können, so läßt sich feststellen, daß nur solche Zellen zweier Fäden Fortsätze gegeneinander treiben, die einander hinlänglich nahe liegen. Alle anderen Zellen müssen steril bleiben, können aber nach einiger Zeit, namentlich dann, wenn verd. Nährlösung zugesetzt wird, ihr Wachstum und ihre Teilungen wieder aufnehmen[5]).

Der vorhin von uns studierte Kopulationsvorgang ist für die ganze Abteilung der als Conjugatae zusammengefaßten Algen charakteristisch. Zu dieser gehören außer den Spirogyren die im süßen Wasser ebenso verbreiteten Zygnema-Arten[6]) (s. Reg. IV), welche an zwei sternförmigen Chromatophoren in jeder Zelle kenntlich sind, und so auch die zierlich gestalteten Desmidiaceen.

Die zu den Chlorophyceen, und zwar zur Ordnung der Siphonocladiales gehörige Gattung Cladophora, die sich mit einer oder der anderen Art auch im Winter in den Aquarien vertreten zeigt und deren Bau uns bereits bekannt ist (vgl. S. 397), gibt ein für das Studium der Schwärmsporen sehr geeignetes Objekt ab. Fäden von Cladophora glomerata, die raschfließendem Wasser ent-

---

1) A. Tröndle, l. c. 1907, S. 205.

2) Neben V. Chmielevsky, l. c. 1890, G. Karsten, Flora, Bd. IC, 1909, S. 1, und A. Tröndle, Zeitschr. f. Bot., III. Jahrg., 1911, S. 593; siehe auch den Bericht von J. Bonnet im Progressus rei bot., Bd. V, 1917, S. 28 ff.

3) Vgl. S. M. Hartmann, Autogamie bei Protisten, Jena, 1909, S. 14. Sonderabdr. a. d. Arch. f. Protistenk., Bd. XIV, 1909, S. 275.

4) R. Chodat, Bull. Soc. bot. Genève, 2. sér., Bd. II, 1910, publ. 1911, S. 158.

5) Nach G. Klebs, Die Beding. d. Fortpfl. bei einig. Algen u. Pilzen, 1896, S. 230 ff. Zu Kultur von Algen auf Agar vgl. auch S. 444 u. Reg. IV Agar.

6) Vgl. L. Kurssanow, Flora, Bd. CIV, 1912, S. 65 ff.

nommen und in flache Gefäße, mit nur etwa 1 cm hoher Wasserschicht, gegen Abend eingelegt werden, sind häufig am nächsten Tage in Schwärmsporenbildung anzutreffen. Dieser Vorgang beginnt an der Spitze der Zweige und schreitet gegen deren Basis fort. Der Inhalt der zu Sporangien werdenden Zellen zerfällt in zahlreiche Schwärmsporen. Diese ziehen sich als zusammenhängende Masse von der Zellwand zurück und umgeben einen zentralen, mit schleimigem Inhalt erfüllten Saftraum. Die Entleerung der Schwärmsporen erfolgt unter dem Druck des Inhalts durch eine Öffnung, die durch Verquellung der Zellwand entsteht. Einzelne Schwärmsporen bleiben auch wohl in dem Sporangium zurück. Stellt man die Untersuchung in einem Hängetropfen an, so sammeln sich unter dem richtenden Einfluß des Lichts die Schwärmsporen schließlich an dem zum Fenster gekehrten oder von ihm abgekehrten Rand des Tropfens. Die Schwärmsporen von Cladophora gehören aber nicht zu den lichtempfindlichsten; sie bleiben längere Zeit im Tropfen zerstreut, bewegen sich dort in unbestimmten Bahnen und gelangen nur allmählich, während ihre Bewegungsenergie abnimmt, an den Tropfenrand, wo sie zur Ruhe kommen. Sie runden sich dann ab und umgeben sich mit einer Zellhaut. — Jede einzelne Schwärmspore ist birnförmig, am vorderen Ende, der sog. Mundstelle, farblos, sonst grün, seitlich mit einem roten „Stigma" oder „Augenfleck" versehen. Durch Zusatz von ein wenig Jodjodkaliumlösung oder von 1-proz. Osmiumsäure lassen sich die Schwärmsporen gut fixieren (Fig. 195). Man erkennt dann an ihrem vorderen Ende zwei Zilien (bei anderen Cladophora-Arten auch vier), die am Grund eines kleinen, kegelförmigen, farblosen Höckers entspringen. Bei günstiger Lage der Schwärmspore ist in ihrer vorderen Hälfte ein kleiner Zellkern zu erkennen (vgl. die Figur).



Fig. 195. Cladophora glomerata. Eine mit 1-proz. Osmiumsäure fixierte Schwärmspore. Rechts an ihr der Augenfleck; in der vorderen Hälfte ist der Zellkern zu sehen. Vergr. 1000.

Die eben beobachteten Schwärmsporen waren ungeschlechtlich, doch können bei Cladophora noch andere, kleinere, geschlechtlich differenzierte Schwärmer, d. h. Gameten, erzeugt werden. Diese kopulieren miteinander. Sie sind an marinen Formen beobachtet worden[1]). Die größeren, ungeschlechtlichen Schwärmsporen besitzen bei ihnen vier Zilien, die kleineren Gameten nur zwei.

Der Augenfleck der Schwärmsporen oder Gameten stellt anscheinend einen Karotin-führenden Chromoplasten dar[2]), der vielleicht als Hilfsapparat bei der Lichtperzeption wirkt, indem er das benachbarte, lichtempfindliche, farblose Plasma vor allseitiger Belichtung schützt, wodurch die Wahrnehmung der Richtung des einfallenden Lichts erleichtert wird[3]). Er läßt sich leichter erkennen, wenn man mit dem Abbeschen Beleuchtungsapparat ohne Blenden untersucht, das Strukturbild somit ausschaltet, das Farbenbild hingegen zur vollen Geltung bringt[4]).

[1]) Vgl. J. E. Areschoug, Observ. phycol. II., Acta soc. scient. Upsala. Bd. IX, 1874
[2]) W. Rothert, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXII, 1914, S. 91.
[3]) G. Haberlandt, Physiol. Pflanzenanatomie, 5. Aufl., Jena 1918, S. 585; vgl. auch J. Buder, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LVIII, 1919, S. 210 ff.
[4]) L. Klein, Ber. d. Naturf. Gesellsch. zu Freiburg i. Br., 1892, S. 48.

Für das Studium der Kopulationsvorgänge, der schwärmenden Gameten oder Planogameten empfiehlt sich vor allem, soweit es zu erlangen ist, das auf feuchtem Lehmboden, in Gräben und an Teichrändern, in Gemeinschaft von Botrydium granulatum wachsende Protosiphon botryoides[1]). Beide Pflänzchen sind fast mikroskopisch klein; das erste wird am besten zu den ungleichwimprigen Grünalgen (Heterocontae), das zweite zu den Protococcales unter die Chlorophyceen gestellt werden[2]). Protosiphon zeigt sich als runde oder schlauchförmige, durch Aussprossung und Verzweigung verschieden gestaltete Zelle. Es besitzt einen oberirdischen, grünen und einen im Boden befindlichen, farblosen, langgestreckten, meist unverzweigten Teil. Wenn der oberirdische Teil kugelig oder oval ist, dann unterscheidet sich das Pflänzchen von Botrydium granulatum nur durch seine geringere Größe, sowie dadurch, daß es seine grüne Färbung nur einem einzigen netzartig durchbrochenen Chromatophor verdankt. Hat man Botrydium granulatum im Präparat, so weist dessen 1—2 mm große oberirdische Blase in ihrem Wandbeleg zahlreiche Chlorophyllkörner auf. Auch zeigt sein im Boden befindlicher, farbloser, fadenförmiger Teil, falls er unversehrt freigelegt wurde, eine reiche dichotomische Verzweigung (Fig. 197 *A*). Zur Charakterisierung von Protosiphon gehören außerdem noch die zahlreichen Stärkekörnchen im Chromatophor und die in diesem verteilten, von kleinen Stärkekörnchen umhüllten Pyrenoide. Botrydium führt hingegen nie Stärke, Pyrenoide in den Chlorophyllkörnern nur auf den jüngsten Entwicklungszuständen, dagegen viel fettes Öl. — Die runden Protosiphon-Zellen vermehren sich durch Zweiteilung, und häufig findet man die Individuen noch gruppenweise vereinigt; die schlauchförmigen Protosiphon-Zellen grenzen ihre seitlichen Ausstülpungen durch Querwände ab, teilen sich auch wohl in kürzere Abschnitte. Die vom feuchten Erdboden ins Wasser übergeführten Protosiphon-Zellen bilden nach 6—7 Std. Schwärmer, die sich, falls man sie im hängenden Tropfen untersucht, stets an dessen Lichtrand sammeln. Die gestreckt-birnförmigen Schwärmer sind mit zwei Zilien versehen, weisen einen undeutlichen Augenfleck und zwei kleine, kontraktile Bläschen auf. Läßt man die Pflänzchen samt dem Boden, auf dem sie gewachsen sind, bei höherer Temperatur, etwa bei 26—30° austrocknen, so zerfällt ihr Inhalt in eine Anzahl rundlicher, mit Membran sich umgebender Sporen, auch Zysten genannt. In der Sonne nehmen diese Sporen rote Färbung an, indem sie Hämatochrom erzeugen. Auch aus solchen trockenen Sporen werden, wenn man sie in Wasser legt, durch rasch aufeinanderfolgende Zweiteilungen des Inhalts Gameten erzeugt. Da solche Sporen, trocken aufbewahrt, ein Jahr und darüber ihre Entwicklungsfähigkeit bewahren, so geben sie ein sehr wertvolles Material ab, um die Gametenbildung und die sich anschließenden Vorgänge zu beobachten. Es genügt, etwas von dem roten Sporenmaterial in einen hängenden Tropfen auf das Deckglas zu bringen, dieses den Rändern einer kleinen, feuchten Kammer, etwa eines mit Wasser durchtränkten Papprahmens, aufzulegen, um am Morgen des nächsten Tages, falls das Material noch brauchbar war, zahlreiche, relativ kleine Gameten zu finden. Diese sammeln sich in wenigen Min. an dem Lichtrand des

---

[1]) J. Rostafinski und M. Woronin, Bot. Ztg., XXXV. Jahrg., 1877, Sp. 649. Die folgende Schilderung entsprechend modifiziert nach den späteren Untersuchungen von G. Klebs, l. c. 1896, S. 187 ff.

[2]) Nach Fr. Oltmanns, Morphologie und Biologie der Algen, 2. Aufl., Bd. I, 1922.

Tropfens an[1]), d. h. an dem Rand, der dem Fenster zugekehrt ist. Drehen wir das Präparat um 180°, so sehen wir alle Gameten sofort in gerader Richtung nach dem nunmehrigen Lichtrand des Tropfens hineilen. Diese Gameten sind somit positiv phototaktisch, denn sie werden in bestimmter Weise durch den Lichtstrahl gerichtet, und photometrisch, denn sie sind für Unterschiede der Lichtintensität empfindlich, und zwar in dem vorliegenden Fall auf ein Licht hoher Intensität gestimmt. Je nach dem Entwicklungszustand und der Temperatur pflegt die Lichtstimmung der Schwärmsporen und Gameten sich in anderen Fällen zu verändern, während die Gameten von Protosiphon fast unter allen Umständen positiv phototaktisch bleiben. Schalten wir, während diese oder andere Gameten oder Schwärmsporen auf dem Weg von dem einen Rand des Tropfens zum anderen sich befinden, plötzlich ein Blatt Papier zwischen das Mikroskop und die Lichtquelle ein, so schwenken die Schwärmer sofort zur Seite ab, manche drehen sich sogar im Kreise, doch das dauert nur einen Augenblick, und sie lenken in die verlassenen Bahnen wieder ein. Die Bewegung, die so zustande kam, können wir als Schreckbewegung bezeichnen. Entfernen wir jetzt den Lichtschirm, so ist eine ähnliche Erscheinung nicht zu beobachten[2]). — Betrachten wir nunmehr bei starker Vergrößerung die am Lichtrand angesammelten Gameten, so stellen wir fest, daß sie einen gestreckt-eiförmigen, vorn zugespitzten Körper besitzen (Fig. 196*a*). Am vorderen Ende farblos, sind sie weiter nach rückwärts ziegelrot bis grünrot gefärbt und zeigen an einer Seite einen kleinen, mehr oder weniger deutlichen, roten Punkt. Am vorderen Ende trägt der Schwärmer zwei Zilien, zeigt dort auch ein Paar kleine kontraktile Bläschen. Die Schwärmer bewegen sich am Tropfenrand lebhaft durcheinander und wir stellen alsbald fest, daß sie miteinander kopulieren. Alle Augenblicke kommt es vor, daß zwei Schwärmer mit ihren farblosen Enden aufeinanderstoßen und haften bleiben (*b*). Alsbald legen sich beide Schwärmer mit ihren Seiten gegeneinander und verschmelzen langsam der Länge nach (*c*). Währenddessen fahren sie fort, sich lebhaft zu bewegen. Bald ist nur noch ein kurzer Einschnitt an ihrem Hinterende zu bemerken. Schließlich bilden sie nur noch einen einzigen, entsprechend dickeren, mit zwei seitlichen Punkten und vier Zilien versehenen Schwärmer (*d*), der hierauf allmählich zur Ruhe kommt. So ist aus zwei Gameten eine Jochspore, Zygote oder Zygospore entstanden, die sich abrundet (*f*), regelmäßig verteilte Höcker erhält und eine Ruheperiode durchzumachen hat. Merkwürdig ist es, daß die geschilderten Kopulationsvorgänge nur bei Temperaturen unter 25° erfolgen; läßt

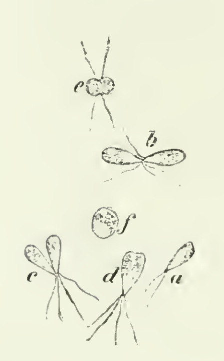


Fig. 196. Protosiphon botryoides. Planogameten, und zwar bei *a* ein einzelner Planogamet, bei *b* zwei Planogameten in der ersten Berührung, bei *c*, *d* u. *e* in seitlicher Verschmelzung, bei *f* die Zygospore nach vollzogener Verschmelzung der Gameten. Vergr. 540.

[1]) E. Strasburger, Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss., Bd. XII, 1878, S. 566; E. Stahl, Bot. Ztg., XXXVIII. Jahrg., 1880, Sp. 409. Über die phototaktischen Richtungsbewegungen vgl. J. Buder, l. c. 1919, S. 105 ff.; dort auch die neuere Literatur. Siehe ferner E. Bolte, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LIX, 1920, S. 287 ff.

[2]) Vgl. a. die Angaben von Fr. Oltmanns, Zeitschr. f. Bot., Bd. IX, 1917, S. 257 ff.

man die Entwicklung der Schwärmer bei 26—27 ⁰ sich vollziehen, so kommen sie ohne Paarung zur Ruhe, runden sich zu Sporen ab, die glatt bleiben und gleich zu keimen vermögen. Die so erzeugten Sporen könnten danach als jungfräuliche Sporen oder Parthenosporen bezeichnet werden. — Hat man das Sporenmaterial spät am Abend in den Tropfen gebracht, so kann es am Morgen gelingen, Zustände der Bildung und der Entleerung der Planogameten zu sehen. Die Planogameten werden innerhalb einer zarten, farblosen Blase aus der Sporenhaut entleert. Die zarte Blase zerfließt rasch in dem umgebenden Wasser.

Auch Botrydium granulatum bildet alsbald Schwärmsporen, wenn man die im Freien gesammelten Pflänzchen in Wasser legt. Der Wandbeleg zerfällt alsdann in zahlreiche Schwärmer, die am Scheitel des Pflänzchens durch eine gallertartig aufquellende Stelle der Wand entlassen werden. Diese Schwärmer sind ungeschlechtlich; sie erscheinen gestreckt-eiförmig, sind mit einer einzigen Wimper an ihrem vorderen Ende versehen (Fig. 197 *B*) und führen zwei Chloroplasten. Sie bleiben im Tropfen zerstreut, sammeln sich also nicht an einer Seite. Die zur Ruhe gekommenen Schwärmsporen runden sich ab und umgeben sich mit einer Membran. Im Wasser keimen sie nicht, wohl aber, wenn sie auf feuchte Erde übertragen werden.

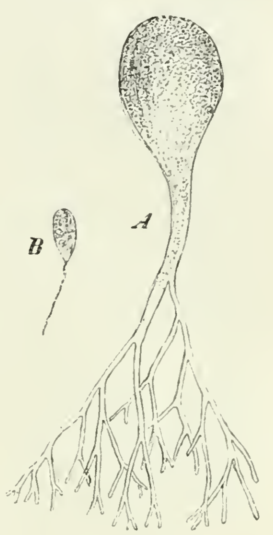


Fig. 197. *A* und *B*. Botrydium granulatum. *A* ein freigelegtes Pflänzchen mittlerer Größe. Vergr. 28. *B* eine Schwärmspore, mit Jodlösung fixiert. Vergr. 540.

Protosiphon wie Botrydium sind vielkernig; die kleinen Kerne im Wandbeleg lassen sich nur an entsprechend fixierten und gefärbten Präparaten eingehender studieren. Wir wollen ihren Nachweis weiterhin bei Vaucheria versuchen.

Ein anderes, sehr geeignetes Objekt für die Beobachtung der Kopulation von Gameten wäre Ulothrix zonata, eine, wie Cladophora, zu den Chlorophyceen gehörende, grüne Süßwasseralge. Sie ist in rasch fließenden, klaren Bächen und an fließenden Brunnen besonders häufig anzutreffen. Die einfachen, unverzweigten, aus einer Zellreihe bestehenden Fäden sind mit ihrer untersten, gestreckten und verjüngten Zelle am Substrat befestigt. Je nach dem Standort erlangen die Fäden sehr verschiedene Dicke. Ihre Zellen sind stets sehr kurz und durch einen gürtelförmigen Chlorophyllkörper ausgezeichnet. Der flache Zellkern liegt der Wand einseitig an; der Chromatophor zeigt sich an der betreffenden Stelle entweder unterbrochen oder an der Innenseite des Kerns nur schwach entwickelt. Pflänzchen, die man aus dem Freien holte und im Zimmer in Gefäße mit Leitungswasser legte, bilden am nächsten Tage Schwärmsporen. Ulothrix ist aber empfindlich gegen Temperaturen, die 15 ⁰ überschreiten. Mit 2—4-proz. Rohrzuckerlösungen läßt sich erreichen, daß die Zoosporenbildung länger anhält; sie pflegt aber unter allen Umständen nur einige Tage, mit abnehmender Intensität zu dauern. Überführung aus der Zuckerlösung in reines Wasser kann als Reiz wirken und nochmals Zoosporenbildung aus-

lösen. Ulothrix ist übrigens im Zimmer nicht lange am Leben zu erhalten. — Die birnförmigen Schwärmsporen besitzen vier lange, am vorderen Ende inserierte Zilien, einen roten Augenfleck und eine kontraktile Vakuole. Es werden in den meisten Fällen bis zu acht Schwärmsporen, Makrozoosporen, in einer Zelle erzeugt. Sie treten von einer gemeinsamen Blase, von der innersten Verdickungsschicht der Mutterzellwand umgeben, aus dem Sporangium hervor. Diese Blase löst sich im umgebenden Wasser rasch auf, und die Schwärmsporen eilen davon, eine zentrale Blase zurücklassend, die aus dem Saftraum der Mutterzelle hervorging[1]). Daneben bildet Ulothrix auch noch Mikrosporen aus, die in größerer Zahl in den Zellen entstehen, demgemäß kleiner, dabei etwas gestreckter sind, aber auch vier Zilien tragen[2]). Sie setzen sich mit dem vorderen Ende (Mundende) fest und treiben an der Anheftungsstelle ein Rhizoid. — Außer diesen ungeschlechtlichen Schwärmsporen bildet Ulothrix auch Gameten. Sie werden zu 16, 32, selbst mehr in derselben Zelle erzeugt, zeigen ungefähr die gleiche Größe, auch denselben Bau wie die Mikrosporen, nur erscheinen sie mehr rundlich, besitzen vor allem nur zwei Zilien. Eine Kopulation erfolgt nur dann, wenn die Gameten verschiedenen Zellen entstammen. Sie geht dann in der schon bei Protosiphon geschilderten Weise vor sich. Künstlich läßt sich die Bildung von Gameten nicht erzwingen, wohl aber neigt die Alge im Freien, wenn ihre Fäden bei sinkendem Wasser aus diesem herausragen, zur Gametenbildung. — Die Schwärmsporen von Ulothrix sind ebenso lichtempfindlich wie die Gameten von Protosiphon, und alle die dort besprochenen Versuche lassen sich mit ihnen ausführen. Sie bleiben je nach Umständen länger oder kürzer, selbst 24 Std. lang in Bewegung. Im Dunkeln können sie sich nicht normal zur Ruhe setzen, schwärmen dort etwa 3 Tage lang und gehen schließlich zugrunde.

Aus der Abteilung der einzelligen, vielkernigen Schlauchalgen, Siphonales, wählen wir auch noch die sehr verbreitete Vaucheria sessilis zur Untersuchung aus, die in ihrer terrestren Form auch im Winter zur Verfügung steht, wo sie vielfach die Erde der Blumentöpfe in den Gewächshäusern mit ihrem Gewirr von verzweigten, grünen Fäden überzieht, das an Moosprotonemen (vgl. S. 376) erinnert. Von diesen läßt sie sich jedoch unter Mikroskop leicht schon dadurch unterscheiden, daß die Protonemen durch schräg gestellte Zellwände gegliedert sind; während Vaucheria uns als unregelmäßig verzweigter, einzelliger Schlauch entgegentritt. Die Zweige, welche dem Substrat sich anschmiegen, z. T. dort eindringen, enthalten nur vereinzelte Chlorophyllkörner; an ihren Enden zeigen sie sich oft unregelmäßig lappig ausgebuchtet. Die aufstrebenden Zweige führen in einem dicken, plasmatischen Wandbeleg zahlreiche Chlorophyllkörner. Im Innern dieser Chlorophyllkörner ist keine Stärke nachzuweisen, jedoch liegen z. T. wenigstens wohl als Assimilationssekrete[3]) zu deutende Öltröpfchen zwischen den Körnern. Die Membranen bestehen aus Zellulose und Pektinstoffen[4]). Die Zweige wachsen an ihren

[1]) E. Strasburger, Zellbildung und Zellteilung, 1. Aufl., 1875, S. 93. A. Dodel, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. X, 1876, S. 417; E. Strasburger, Jen. Zeitschr., Bd. XII, 1878, S. 566, 602; G. Klebs, l. c. 1896, S. 303 ff.

[2]) Vgl. G. Klebs, l. c. 1896, S. 313.

[3]) Nach A. Meyer, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXVI, 1918, S. 235 ff.

[4]) R. Mirande, Ann. Sc. nat., Bot., 9. sér., Bd. XVIII, 1913, S. 147 ff.

Enden, in denen meist farbloses Plasma angesammelt ist. Unter diesen Enden treten neue Zweige als seitliche Ausstülpungen hervor. Sie können den Mutterzweig zur Seite drängen, wodurch das Bild einer scheinbaren Dichotomie entsteht, oder auch eine Scheinachse, ein Sympodium, erzeugen, wenn der Tochterzweig sich stärker als der Mutterzweig entwickelt und scheinbar dessen Achse fortsetzt. Auch aus älteren Teilen des Thallus können Seitenzweige entspringen.

Läßt man auf kräftige Pflänzchen Methylgrün-Essigsäure einwirken, so treten die zahlreichen kleinen, runden Kerne[1]) deutlich hervor. Namentlich erkennt man sie an den Spitzen der Zweige, wo sie besonders zahlreich angesammelt sind. Sie färben sich ziemlich intensiv, sind aber außerordentlich klein, so daß starke Vergrößerungen, jedenfalls über 500, in Anwendung kommen müssen. Sie liegen in den älteren Schlauchpartien auf der Innenseite der Chlorophyllschicht, bei der wachsenden Schlauchspitze in der farblosen Plasmaanhäufung dicht unter der Wand, während die Chlorophyllkörper dort sich an der Innenseite des Plasmabelegs, an dem Saftraum halten[2]). Neben den Zellkernen finden sich noch kleinere, sog. metachromatische Einschlüsse, und zwar wohl meist Volutin-Körner, im Plasma hier vor, deren Natur man leicht feststellen kann, wenn man lebende Vaucheriafäden mit Methylenblau-Schwefelsäure (s. S. 427) behandelt, wobei diese Körperchen allein die dunkelblaue Färbung behalten[3]).

Die zu unseren Untersuchungen verwendete Vaucheria sessilis findet sich in Tümpeln und Teichen als grosse, lockere, freischwimmende Fadenmassen. Daneben zeigt sich weitverbreitet, auf feuchtem Boden zartfädige, grüne Überzüge bildend, Vaucheria repens, ferner Vaucheria clavata, die in weichen, kurzgeschorenen, aus dickeren Fäden bestehenden Polstern an Bächen und Flüssen, auch an Wasserfällen, festsitzt[4]).

An Vaucheria wollen wir die Bildung der Schwärmsporen und der Geschlechtsorgane kennen lernen. Man kann jederzeit Schwärmsporen von ihr erhalten, wenn man die mehrere Tage hell und feucht kultivierte Alge mit Wasser übergießt, oder die in 0,2—0,5-proz. Knopscher Nährstofflösung (s. S. 401) hell kultivierte Alge in reines Wasser überführt, oder Kulturen in Wasser oder in 0,1—0,2-proz. Nährstofflösung verdunkelt[5]). Mustert man alsdann mit einer Lupe von großem Fokalabstand die Kultur durch, so wird man leicht an der dunklen Färbung der Fadenenden die ersten Anlagen der Sporangien erkennen. Faßt man nun eine Gruppe von Fäden, welche die erwünschten Zustände zu bieten scheinen, an ihrer Ansatzstelle mit der Pinzette und überträgt sie, ohne daß sie eine Krümmung erfahren, auf einen Objektträger, so kann man jetzt dort die weiteren Ent-

[1]) Näheres über diese bei L. Kurssanow, Biol. Zeitschr., Moskau, Bd. II, 1911, S. 13 ff.; s. auch H. v. Neuenstein, Arch. f. Zellforschg., Bd. XIII, 1914, S. 56.

[2]) Vgl. auch G. Berthold, Protoplasmamechanik, S. 163, und G. Haberlandt, Über die Beziehungen zwischen Funktion und Lage des Zellkerns bei den Pflanzen, 1887, S. 83; ferner E. Küster, Flora, Bd. XCVII, 1907, S. 1, und E. Windel, Beitr. z. allgem. Bot., herausgeg. v. G. Haberlandt, Bd. I, 1. H., 1916, S. 45 ff.

[3]) G. A. Nadson und L. P. Brüllowa, Bull. Jard. Bot. St. Pétersbourg, Bd. VIII, 1908, S. 163; vgl. dazu F. Moreau, Bull. Soc. bot. France, Bd. LVIII, 1911, S. 452 und Ebenda, Bd. LXI, 1914, S. 139.

[4]) Nach G. Klebs, l. c. 1896. S. 6 ff.

[5]) G. Klebs, l. c. 1896, S. 11. S. a. H. Götz, Flora, Bd. LXXXIII, 1897, S. 95

wicklungsvorgänge studieren. Diese spielen sich oft ungetrübt auch unter einem Deckglas ab, wenn man dafür sorgt, daß dieses keinen Druck auf das Objekt ausübt. Man legt hierzu kleine Roßhaare oder Holundermarkstückchen zum Präparat oder versieht das Deckglas durch Schmelzen der vier Ecken in einer Flamme mit Füßchen. Soll ein Sporangium aus einem Zweigende gebildet werden, so sammelt sich in diesem chlorophyllreicher Inhalt, und es beginnt keulig anzuschwellen. Der Saftraum in der Keule verengt sich (Fig. 198 *A*) und wird in deren oberem Teil dann als sphärische Vakuole abgetrennt. Dann entsteht am Grund des Sporangiums eine Scheidewand, bei deren Bildung der chlorophyllhaltige Inhalt der Sporangiumanlage und der des übrigen Schlauches zeitweise auseinanderweichen, so daß man sie durch einen hellen Zwischenraum getrennt sieht (*B*). Um den Sporangiuminhalt bildet sich hierauf ein heller Saum (*E*) aus, der alsbald radiale Streifung verrät. Dieser Saum besteht aus farblosem Plasma; die radiale Struktur rührt von den zahlreichen kleinen, länglichen Kernen her, die in diese peripherische Lage rücken und sich senkrecht zur Oberfläche stellen (*F*, *G*). Die Kerne werden nur nach entsprechender Behandlung mit Reagentien deutlich (am besten nach Fixierung mit 1-proz. Osmiumsäure und Färbung mit Karmalaun) und sind bei starker Vergrößerung zu sehen; zugleich ist dann festzustellen, daß vor jedem Kern ein Zilienpaar der Schwärmspore entspringt[1]). Die Schwärmspore von Vaucheria ist somit vielkernig. Die fertige Schwärmspore wird alsbald entleert. Der Sporangienscheitel reißt mit einem Ruck, und in demselben Augenblick quillt der vordere Teil der Schwärmspore aus der Öffnung hervor und fängt gleichzeitig an, sich um seine Längsachse zu drehen. Die Schwärmspore muß sich durch die Öffnung hindurchzwängen, was meist über 1 Min. in Anspruch nimmt. Die Bewegung der Schwärmsporen hält etwa ¼ Std. an; die Richtung der Bewegung wird von der Richtung der einfallenden Lichtstrahlen nicht beeinflußt. Die Schwärmspore hat eiförmige Gestalt; vorn ist sie breiter; in diesem vorderen Ende liegt der Saftraum. Nur in dem Augenblick, wo die Schwärmspore zur

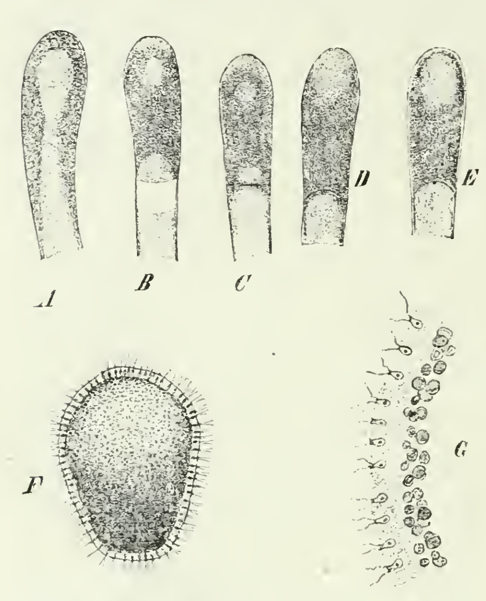


Fig. 198. Vaucheria sessilis. *A* und *B* Anlage eines Sporangiums; *C*—*E* Ausbildung der Schwärmspore aus dem Sporangiuminhalt: *F* eine befreite Schwärmspore; *G* ein Stück der äußeren, farblosen Plasmaschicht dem vorderen Ende der Schwärmspore entnommen. *A*—*E* 95 mal, *F* 250 mal, *G* 900 mal vergr.

---

[1]) F. Schmitz, Sitzber. d. Niederrhein. Gesellsch., 4. Aug. 1879; E. Strasburger, Zellb. u. Zellt., 3. Aufl., 1880, S. 88, u. Histol. Beitr. VI, 1900, S. 187.

Ruhe kommt, sieht man ihre Zilien; sie umgeben als kurzer Flaum den ganzen Körper. Im nächsten Augenblick werden sie in den Körper der Schwärmspore eingezogen, der vorübergehend während dieses Vorganges eine faltige Oberfläche zeigt. Während der Einziehung der Zilien ist zu bemerken, daß um die Schwärmspore sich bereits ein ganz dünnes Häutchen gebildet hat. Die Spore rundet sich dann langsam ab; ihr farbloser Saum schwindet, während ihre Chlorophyllkörner bis an die Oberfläche rücken; die Zellwand wird rasch dicker.

Die zarteren Entwicklungsstadien von Vaucheria, wie deren Schwärmsporen vor und nach dem Auskeimen, lassen sich am besten in ihrem natürlichen Zustand erhalten, wenn man sie nicht länger als $^1/_2$ Std. in 3-proz. Formalin fixiert, wiederholt bis zur vollkommenen Entfernung des Formalins mit Wasser auswäscht und dann in verd., mit etwas Thymol versetztes Glyzerin bringt, das man bei sehr mäßiger Wärme eindunsten läßt. Auch die grüne Farbe bleibt in solchen Präparaten unverändert erhalten. Diese Methode hat sich ebenfalls bei anderen, zarten, grünen Objekten, wie kleinen Lebermoosformen, Farnprothallien, Moosprotonemen u. a. bewährt[1]).

Um den Bau der Schwärmsporen genauer kennenzulernen, fixieren wir in Bewegung befindliche mit entsprechenden Reagentien. Statt auf die Entleerung der Schwärmer zu warten, fangen wir uns solche ein. Die Schwärmsporen sind in der Tat so groß, daß man sie als grüne Punkte mit dem bloßen Auge sehen kann. Befindet sich die Kultur in einer Porzellanschale, so heben sich die grünen Schwärmer scharf gegen den weißen Grund ab. Man fängt sie am besten mit einem kleinen, elfenbeinernen Ohrlöffelchen, das man völlig unter Wasser taucht und horizontal langsam unter der Schwärmspore emporhebt. — Schon mit Metylgrün-Essigsäure kann man sich überzeugen, daß die radiale Struktur des Schwärmsporensaums von regelmäßig verteilten Zellkernen herrührt, und daß vor jedem Kern zwei Zilien der Oberfläche entspringen (Fig. 198 *F*, *G*). Um Dauerpräparate herzustellen, fixiert man die Schwärmsporen mit 1-proz. Osmiumsäure, mit 1-proz. Chromsäure, mit Pikrinsäure oder auch mit Alkohol und färbt sie hierauf, bei Einhaltung der früher besprochenen Vorsichtsmaßregeln, mit Boraxkarmin, mit Parakarmin oder mit Hämatoxylin. Mikrotomschnitte aus in Paraffin eingebettetem Material lassen sich gut mit Safranin-Gentianaviolett-Orange färben (vgl. S. 83 ff.). Die Beobachtung der Kerne verlangt starke Vergrößerungen. Die Kerne sind regelmäßig verteilt, radial gestreckt, nach außen etwas zugespitzt, womit ihre Gestalt genau der eines Destillierkolbens mit kurzem Hals gleicht. Ihr Halsende reicht bis zur Hautschicht, welche, dieser Ansatzstelle entsprechend, zu einer schwach konkav-konvexen Linse angeschwollen ist. Vom Rand dieser Linse aus, dort, wo sie an die unverdickte Hautschicht grenzt, entspringen an zwei einander gegenüberliegenden Stellen die Zilien. Ihre Ansatzstellen sind als ganz schwache Knötchen kenntlich. In jedem Kern ist noch ein kleines Kernkörperchen zu unterscheiden (*G*). — In der zur Ruhe gekommenen Schwärmspore ziehen sich die Kerne wieder unter die Chlorophyllschicht, wo wir sie schon früher (S. 489) im Thallus gesehen hatten, zurück. — Untersucht man die zur Ruhe gekommenen Sporen nach 24 Std., so findet man sie bereits an einer oder an zwei Stellen schlauchförmig ausgekeimt.

---

[1]) J. A. Nieuwland, Bot. Gaz., Bd. XLVII, 1909, S. 237.

Durch vorsichtiges Aufsaugen des Wassers mit Fließpapier am Deckglasrand gelingt es leicht, das Deckglas einer in Bewegung befindlichen Schwärmspore so weit zu nähern, daß sie dadurch festgehalten wird, ohne zunächst eine Beschädigung zu erfahren. So kann man bequem auch die lebende Schwärmspore studieren. Um kleine in Bewegung befindliche Organismen festzuhalten, bedient man sich im übrigen oft mit Vorteil der Wachsfüßchen [1]). Ist das Wachs hinreichend weich, so kann man durch Druck auf das Deckglas dessen Entfernung vom Objektträger nach Wunsch regulieren.

Gilt es, in Bewegung begriffene Organismen zu beobachten und sie doch im Gesichtsfeld des Mikroskops zu behalten, so empfiehlt es sich, ein Stück feines Nesseltuch bzw. Musselin auf den Tropfen zu legen und ihn hierauf erst mit Deckglas zu bedecken. Die betreffenden Organismen werden in den Maschen des Tuches gefangen und können somit nur innerhalb eines übersehbaren Raums ihre Bewegungen ausführen.

Um die Bewegung der etwa zu beobachtenden Schwärmsporen oder anderer ähnlicher Organismen zu verlangsamen, hat man auch wohl Gelatinelösungen oder Gummi der Beobachtungsflüssigkeit zugesetzt. Etwa 0,8—1 g Gelatine werden zu diesem Zweck in 100 ccm gewöhnlichen Wassers gelöst [2]). Es empfiehlt sich unter Umständen, diese Lösung dem erwärmten Objektträger aufzutragen, dann den Wassertropfen, der die kleinen Organismen enthält, hinzuzufügen, umzurühren und das Deckglas aufzulegen. Vielfach ist eine Lösung von Gummi arabicum vorzuziehen; in bestimmten Fällen hat sich endlich eine dicke Lösung von Kirschgummi als vorteilhaft und den Organismen, deren Bewegung verlangsamt werden soll, besonders zuträglich erwiesen [3]).

Bei bestimmten Vaucheria-Arten werden statt der Schwärmsporen von einer zarten Membran umgebene, zilienlose, unbewegliche Sporen, „Aplanosporen“, von länglich keulenförmiger Gestalt ausgebildet, die entweder wie die Schwärmsporen durch einen Riß oder auch durch Verwitterung der Sporangiummembran entlassen, bzw. frei werden [4]), schließlich auch innerhalb der Sporangienwand keimen können.

In den Vaucheria-Kulturen pflegen nach einiger Zeit Geschlechtsorgane aufzutreten. Man kann diese Algen in wenigen Tagen zur Bildung von Geschlechtsorganen veranlassen, wenn man sie in 2—4-proz. Rohrzuckerlösung überführt und der Einwirkung von hellem Licht aussetzt [5]). Bei Vaucheria repens entspringen die weiblichen Organe, die Oogonien, meist in Einzahl dem Faden und werden von nur einem männlichen Organ, dem Antheridium, begleitet. Das Oogonium sitzt unmittelbar dem Faden auf; das Antheridium schließt einen kurzen, hornartig gekrümmten Ast des Fadens ab. — Das Oogonium (Fig. 199 *o*) ist schief eiförmig, dicht angefüllt mit chlorophyll- und ölhaltigem Plasma, durch eine

---

[1]) Vgl. O. Kirchner, Die mikrosk. Pflanzenwelt des Süßwassers, S. VII.

[2]) P. Jensen, Biol. Zentralbl., Bd. XII, 1892, S. 556, und W. Behrens, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. IX, 1892, S. 484.

[3]) J. Eismond, Zool. Anz., Bd. XIII, 1880, S. 723.

[4]) A. Ernst, Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. XVI, 1904, S. 367. Vgl. über die Methoden zur Anregung ihrer Ausbildung Reg. IV, Vaucheria.

[5]) G. Klebs, l. c. 1896, S. 98.

Scheidewand etwas oberhalb ihrer Ansatzstelle vom Thallusfaden abgegrenzt. Es weist einen einseitigen, schnabelförmigen Auswuchs auf, in dem sich farbloses Plasma ansammelt; dieses nimmt auf vorgerückteren Entwicklungszuständen das ganze obere Drittel des Eies ein. Beobachten wir fortgesetzt ein solches Oogonium, so sehen wir die farblose Substanz am Schnabelende einen papillenartigen Fortsatz treiben, der sich mehr und mehr zu einer selbständigen Kugel abrundet; diese trennt sich schließlich von dem Inhalt des Oogoniums und wird in das umgebende Wasser ausgestoßen, wo sie langsam zugrunde geht. Die Membran des Oogoniums ist am Schnabelende verquollen, und die entstandene Gallerte löst sich dort schließlich ganz auf. Der zurückgebliebene Inhalt des Oogoniums rundet sich ab; sein farbloser Scheitel ist der Empfängnisfleck. Der das Antheridium tragende Ast zeigt sich mehr oder weniger stark gekrümmt. Sein oberes Drittel ist zum Antheridium geworden und erscheint durch eine Scheidewand abgegrenzt (Fig. 199 *a*). Es zeichnet sich in reifendem Zustand durch farblosen Inhalt aus, während der tragende Zweig reich an Chlorophyllkörnern ist. Das Antheridium kehrt meist seine Spitze von dem Oogonium ab. In dem farblosen Inhalt des Antheridiums sind kurze Stäbchen in longitudinaler Anordnung mehr oder weniger deutlich zu unterscheiden. Zu der Zeit, wo das Oogonium einen Teil der farblosen Substanz seines Schnabelfortsatzes ausstößt, öffnet sich das Antheridium an der Spitze und entleert seinen schleimigen Inhalt. Der größte Teil des letzteren bleibt in Gestalt farbloser Blasen im umgebenden Wasser liegen, wo er sich langsam zersetzt; ein kleinerer Teil eilt in Gestalt winzig kleiner Spermatozoiden davon. Diese lebhaft wimmelnden Spermatozoiden sammeln sich alsbald in der Gallertmasse am Scheitel des Oogoniums an. Einzelne dringen bis an den farblosen Empfängnisfleck des Eies vor und tasten gleichsam an ihm herum. In besonders günstigen Fällen ist das Eindringen eines solchen Spermatozoids in den Empfängnisfleck festzustellen. Schon wenige Minuten später hat sich das befruchtete Ei, die Oospore (Zygote), mit einer zarten Membran umgeben, die besonders deutlich am Empfängnisfleck zu sehen ist. Einige Stunden später ist der farblose Empfängnisfleck an der Oospore verschwunden. Ältere Oosporen sind dicht mit großen Öltropfen erfüllt, zeigen einige braune Flecke im Innern und besitzen eine derbe Haut.

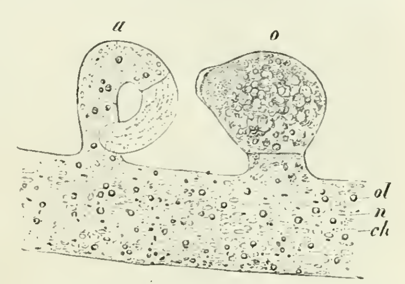


Fig. 199. Vaucheria repens. Stück des Thallus mit Geschlechtsorganen. *o* Oogonium; *a* Antheridium; *ch* Chromatophoren; *ol* Öltropfen u. andere Einschlüsse. Auch die Zellkerne *n*, die man nur nach entsprechender Färbung sieht, sind eingetragen worden. Vergr. 240.

Auch in nicht befruchtetem Zustand können die Oogonien zur Weiterentwicklung angeregt werden (Parthenogenese), indem man sie im Stadium zwischen der Abgliederung vom Thallusfaden und ihrer Öffnung mittels sehr feiner Nadeln oder sehr dünner scharfer Glaskapillaren ansticht, nachdem man vorher, um eine Befruchtung auszuschließen, mittels einer Nadel

die jungen Antheridium-Anlagen entfernt hat. Es gelingt auf gleiche Weise bei jungen Antheridium-Anlagen, deren Abtrennung vom Thallusfaden durch die Scheidewand erfolgt ist, Auswachsen zu einem neuen Faden auszulösen. Die Operationen müssen in einer plasmolysierenden Flüssigkeit (3-proz. Kalisalpeter) ausgeführt werden; nach 2 Minuten spült man die Objekte ab und überführt sie in normale, 0,05-proz. KNOPsche Nährlösung[1]).

Fixiert man die in Bewegung befindlichen Spermatozoiden mit Jodjodkalium, so kann man zwei seitlich inserierte, entgegengesetzt gerichtete Zilien an ihnen erkennen. Der Zellkern nimmt den größten Teil des Körpers der Spermatozoiden ein; Chromatophoren sind in diesen Spermatozoiden nicht vorhanden. — Über das Verhalten des Eiinhalts ist nur an Mikrotomschnitten, also an fixiertem, nach entsprechendem Einbetten geschnittenem und gefärbtem Material Auskunft zu erlangen[2]). Da stellt sich heraus, daß die Oogonium-Anlagen von Vaucheria zunächst eine große Zahl gleichmäßig verteilter Kerne führen, daß hierauf ein Teil des Plasmas mit Chlorophyllkörnern und fast allen Kernen in den Tragfaden zurückwandert und hierauf das Oogon durch eine Scheidewand von dem Tragfaden abgetrennt wird. Nur ein Kern ist in dem Oogonium zurückgeblieben und stellt nun den Eikern vor. Die beim Öffnen des Oogons ausgestoßene Plasmamasse enthält keine Kerne. Nach Eindringen des Spermatozoids verschmilzt dessen Kern, der Spermakern, mit dem Eikern. — Da die Befruchtung bei dieser Pflanze sich normalerweise des Nachts vollzieht, so ist die Pflanze, falls man sie in den Tagesstunden beobachten will, des Abends auf Eis zu setzen. Die Beobachtungen selbst sind im Hängetropfen vorzunehmen, die zu untersuchenden Fäden somit, ohne Beschädigung, in einen auf einem Deckglas befindlichen Tropfen zu übertragen, das Deckglas umzukehren und einer kleinen, feuchten Kammer aufzulegen. Die Fixierung läßt sich mit 1-proz. Chromsäure oder 1-proz. Chrom-Essigsäure gut vollziehen. Zur Färbung benutzt man mit Vorteil Gentianaviolett-Eosin bzw. Gentianaviolett-Orange[3]).

Die nämlichen Mittel, die wir angewandt haben, um die hier behandelten Algen zur Bildung von Schwärmsporen und zur Anlage von Geschlechtsorganen zu veranlassen, pflegen auch bei anderen Algen nicht zu versagen, wenn sie auch im Einzelfall zu modifizieren sind[4]).

Wer Gelegenheit hat, an der Meeresküste geschlechtsreifen Fucus zu untersuchen, sollte das nicht unterlassen[5]). Fucus-Arten sind an den Küsten der nördlichen Meere fast das ganze Jahr hindurch mit Geschlechtsorganen

---

[1]) Nach F. v. WETTSTEIN, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXVIII, 1920, S. 260 bzw. 264. Vgl. dazu G. HABERLANDT, Sitzber. preuss. Akad. Wiss., Berlin, 1921, S. 233, bzw. Derselbe in seinen Beiträgen z. Allgem. Bot., Bd. II, 1921, S. 46 ff.

[2]) FR. OLTMANNS, Flora, Bd. LXXX, 1895, S. 388; u. a. auch W. HEIDINGER, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXVI, 1908, S. 313. Dort auch weitere Literatur.

[3]) Über die Orientierung der Fäden beim Fixieren und Schneiden vgl. S. 422.

[4]) Vgl. im übrigen G. KLEBS, l. c. 1896.

[5]) G. THURET et M. BORNET, Etudes phycologiques, 1878, S. 26: dort die ältere Literatur; dann A. DODEL, Biolog. Fragmente, 1885; J. BEHRENS, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. IV, 1886, S. 92; E. STRASBURGER, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXX, 1897, S. 362; J. BRETLAND FARMER u. J. LL. WILLIAMS, Phil. Transact. Roy. Soc. London. Ser. B, Vol. CXC, 1898, S. 623; FITTING, JOST, SCHENCK, KARSTEN, Lehrb. d. Bot., XV. Aufl., 1921, S. 376, 377; dort Abbildungen.

aufzufinden. Werden sie gleich bei Eintritt der Ebbe, wenn sie außer Wasser kommen, gesammelt und feucht, ohne anderweitige Verpackung versandt, so ist es sogar möglich, den Befruchtungsvorgang an vom Meer entfernten Orten zu beobachten. Man muß sich dann auch gleichzeitig Seewasser senden lassen, oder aber künstliches Seewasser (vgl. Reg. IV) bei Ankunft der Algen zur Verfügung haben. Einen Teil der Algen hängt man übrigens bei ihrer Ankunft frei an Schnüren auf, den anderen bringt man in das Seewasser. Die frei aufgehängten Exemplare dürften alsbald ihre Geschlechtsprodukte in Schleimtropfen aus den Behältern (Konzeptakeln) entleeren. Diese Tropfen benutzt man für die Untersuchung. Dann werden die Algen selbst in Seewasser gelegt. Nach etwa 6 Std. kann man sie wieder herausholen und frei aufhängen, so auch die Exemplare, die man gleich in Seewasser brachte. Vielleicht gelingt es überhaupt jetzt erst, die Geschlechtsprodukte zu erlangen. Sollen die Fucus-Exemplare in Kultur längere Zeit erhalten bleiben, so sind die auf Seite 401 für die Kultur von Meeresalgen erteilten Ratschläge zu befolgen. — Man wähle womöglich Fucus vesiculosus für die Untersuchung aus, da er diözisch ist, was Vorteile gewährt. An fertilen Exemplaren von Fucus sind die letzten Auszweigungen etwas angeschwollen; sie enthalten die Geschlechtsprodukte in runden Hohlräumen, den Konzeptakeln, die mit einer engen Öffnung nach außen münden. Diese Stellen sind als kleine Wärzchen sichtbar. Aus den bei der Ebbe bloßgelegten oder frei aufgehängten Exemplaren von Fucus vesiculosus treten alsbald orangerote oder schmutzig-grüne Schleimtröpfchen hervor. Die ersteren erhalten die mit Spermatozoiden gefüllten, eiförmigen Antheridien, die letzteren die mit acht Eiern erfüllten Oogonien. Antheridien wie Oogonien sind, um aus dem Konzeptakel entleert zu werden, von ihren Stielzellen abgelöst worden; auch haben sie eine äußere Membranhülle an ihrem Ursprungsort zurückgelassen. Heben wir die entleerten Schleimmassen mit dem Ende eines Skalpels von der Mündungsstelle der Konzeptakeln ab und bringen sie in einen hängenden Tropfen Seewasser auf ein Deckglas, das wir über eine feuchte Kammer (s. S. 468) legen, so können wir alsbald die Entleerung der Geschlechtsprodukte beobachten und uns über ihren Bau orientieren. Die Spermatozoiden sind sehr klein im Verhältnis zu den Eiern. Ihr Körper erscheint birnenförmig; sie besitzen zwei seitlich inserierte Zilien verschiedener Länge, von denen die eine kürzere nach vorn, die andere längere nach hinten gerichtet ist. Der kleine Körper wird vorwiegend vom Zellkern eingenommen, außerdem ist er durch einen seitlichen rotbraunen Augenfleck ausgezeichnet[1]). Die Bewegung der Spermatozoiden ist sehr lebhaft und kann unter günstigen Verhältnissen einige Std. dauern. Da sie lichtscheu sind, sammeln sie sich bei intensiver Beleuchtung an dem vom Licht abgekehrten Rand des Tropfens an. — Auf die Entleerung der Eier aus der Oogoniumhülle muß man im allgemeinen länger als auf die Entleerung der Spermatozoiden warten. Dabei ist zu beobachten, daß die Eier zunächst noch von einer inneren Membranschicht der Oogoniumhülle umschlossen hervortreten, während eine äußere Membranschicht sich umstülpt. Die innere Membranschicht quillt in dem umgebenden Wasser, während die acht Eier sich gegeneinander abrunden. Schließlich werden sie frei. Die Eier sind nackt,

[1]) Über den näheren Bau der Fucus-Spermatozoiden vgl. H. Kylin, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXIV, 1916, S. 194; und Fr. Meves, Arch. f. mikrosk. Anatomie, Bd. XCI, 1918, S. 274 bzw. 283. Dort auch die ältere Literatur.

von Phykoxanthin braun gefärbt, von feinkörniger Inhaltsmasse undurchsichtig; in der Mitte lassen sie einen hellen Fleck erkennen, der ihrem Kern entspricht. — Um den Befruchtungsvorgang zu sehen, bereiten wir uns eine große Zahl oogoniumhaltiger Präparate vor und verwerten sie nach der Befreiung der Eier. Letztere behalten mehrere Std. lang ihre Empfängnisfähigkeit. Setzen wir nun einen Wassertropfen, der befreite Eier enthält, ein wenig von dem orangeroten Antheridienschleim zu, so sammeln sich alsbald Spermatozoiden um die Eier an. Um übrigens den Spermatozoiden das Erreichen der Eier zu erleichtern, drehen wir das Präparat so, daß die entleerten Spermatozoiden, das Licht fliehend, auf die Eier treffen. Man kann dann feststellen, daß auch die Spermatozoiden, die etwa um eine Eibreite an den Eiern vorbeikommen, plötzlich von ihrem Weg ablenken, um sich auf das Ei zu stürzen. Es findet eine chemotaktische Anziehung auf solche Entfernungen statt, die etwa einem doppelten Eidurchmesser entsprechen. Die Spermatozoiden bleiben an dem Ei haften, und dieses ist bald ganz von ihnen bedeckt. Sie liegen der Eioberfläche in schräger Richtung, mit der Spitze und einem Teil der zilienlosen Seite an, schlagen mit der hinteren Zilie weiter und versetzen das Ei in rasche Drehung. Diese pflegt bereits einzutreten, wenn die Zahl der anhaftenden Spermatozoiden noch nicht groß ist. Zu Beginn der Bewegung wird deren Richtung oft geändert. Man kann feststellen, daß die Drehung in jener Richtung erfolgt, nach der die Spitzen der meisten Spermatozoiden gerichtet sind[1]); geht die Drehung in eine entgegengesetzte über, so geschieht dies, weil neu hinzugekommene Spermatozoiden von anderer Orientierung das Übergewicht erlangten. Ist eine Richtung zur dauernden geworden, so verändern auch die anders orientierten Spermatozoiden allmählich ihre Lage, und man sieht nur noch gleich gerichtete das Ei umgeben. Das Ei erscheint auch von freien Spermatozoiden umschwärmt, die sich innerhalb seiner Wirkungssphäre bewegen. Besonders wird die Ansammlung von Spermatozoiden zwischen empfängnisfähigen Eiern bemerklich, wenn solche in größerer Zahl nebeneinander liegen. Die durch die Spermatozoiden bedingte Drehung der Eier bei den Fucaceen erinnert auffallend an ähnliche Erscheinungen in verschiedenen Abteilungen des Tierreichs, so bei Echinodermen, Actinien, Würmern. Nach 10—20 Min. hört die Drehung auf; das Ei wird von den anhaftenden Spermatozoiden verlassen und übt dann keine Anziehung mehr aus. Inzwischen ist eben die Befruchtung erfolgt, jedenfalls ein Spermatozoid in das Ei aufgenommen worden, wenn sich das auch bei der Undurchsichtigkeit des Eies nicht direkt feststellen läßt. Das Ei hat gleichzeitig eine äußerst zarte Membran erhalten.

Um die Vorgänge, die sich bei der Befruchtung abspielen, genauer zu ermitteln[2]), mischt man größere Partien von Eiern mit Spermatozoiden in Uhrgläsern und fixiert sie in regelmäßigen Zeitabschnitten, zunächst etwa alle $2\,^1/_2$ Min., dann von 15 Min. an, einige Male alle 10, dann alle 20 Min., dann in Abständen von 1 Std., endlich von mehreren Std. An entsprechend gefärbten Mikrotomschnitten kann man dann in den meisten Eiern zwei Zellkerne erkennen, einen größeren mit größerem Kernkörperchen versehenen, den Eikern, und einen kleineren, fast homogen erscheinenden, den Kern des eingedrungenen Spermatozoids. Das Vordringen

[1]) Vgl. auch G. Thuret et E. Bornet, l. c. 1878, S. 32, Anm.
[2]) Vgl. J. Behrens, l. c. 1886, S. 100.

des Spermakerns nach der Eimitte muß sehr rasch erfolgen, denn man findet ihn für gewöhnlich schon in der Nähe des Eikerns. Der Spermakern vergrößert sich hierauf, nimmt den Bau des Eikerns an und verschmilzt mit diesem. Die Kernkörperchen der beiden Kerne vereinigen sich zu einem einzigen. Nach 24 Std. etwa erfolgt die erste Teilung des Keimkerns, der sich an seinen beiden Polen mit je einem zentrosomähnlichen Körperchen und sehr schön entwickelten Kinoplasmastrahlungen ausgestattet zeigt. Zur Fixierung ist eine 1-proz. Chromsäure geeignet, die aber nicht in Aq. dest., sondern in Seewasser gelöst sein muß; noch besser wirkt das stärkere Chrom-Osmium-Essigsäure-Gemisch, das man zur Hälfte mit Seewasser verdünnt. Die Färbung vollzieht man am besten mit Safranin-Gentianaviolett-Orange G oder HEIDENHAINS Eisen-Hämatoxylin (vgl. S. 83, 86)[1]. Empfohlen[2] wurde auch zur Fixierung dieser Eier Jodwasser, Pikrin-Schwefelsäure, Bromdämpfe, auch siedendes Wasser. — Will man solch kleine Objekte, wie Fucus-Eier, zum Schneiden mit dem Mikrotom vorbereiten, so schlage man den Weg ein, den CAULLERY und CHAPPELLIER für ähnliche mikroskopisch kleine Gebilde angeben[3]. Man nehme eine Glasröhre von etwa 12 cm Länge und 5 mm innerem Durchmesser und binde über das eine Ende ein Stück feiner Leinwand oder Müllergaze[4]. Nun führe man mit einer Pipette die kleinen Objekte ein. Man kann so leicht das Röhrchen mit seinem Inhalt aus einem Reagens in das andere übertragen, wobei sich jedesmal beim Herausheben des Röhrchens die betreffende Flüssigkeit durch den porösen Verschluß hindurch entleert. Es lassen sich dabei die sog. „BORRELschen Röhren" verwenden, d. h. die Röhrchen durch einen Korkstopfen stecken, der zugleich das Gefäß, in dem die zur Einwirkung kommende Flüssigkeit sich befindet, oben abschließt. Schließlich bringt man das Röhrchen mit seinem Inhalt in den Ofen in ein Gefäß mit geschmolzenem Paraffin, hebt es, nachdem die Durchtränkung erfolgt ist, heraus, wobei man, um eine Entleerung zu verhindern, die obere Öffnung mit dem Finger verschließt, und taucht das die Objekte im Paraffin enthaltende untere Ende schnell in kaltes Wasser ein, zieht die Leinwand, bzw. Seide, vom Paraffin ab, erwärmt das Röhrenende an seinen Seiten vorsichtig über einer Bunsenflamme und stößt mit einem starken Draht oder Glasstab den Paraffinblock heraus, den man in kaltem Wasser auffängt. Um rechteckig prismatische Blöcke zu bekommen, die man unmittelbar auf das Mikrotom bringen und in Serienschnitte zerlegen kann, läßt man sich am besten Röhrchen herstellen, deren unteres Ende im Querschnitt entsprechend geformt ist. — Für den gleichen Zweck ist auch ein dickes Uhrglas zu verwenden, an dessen Grund eine etwa 11 mm lange, 2 mm breite und 2 mm tiefe Rinne zur Aufnahme der kleinen Objekte angebracht ist[5]. Bestreichen mit Glyzerin verhindert ein Haftenbleiben des Paraffins in der Rinne.

---

[1]) E. STRASBURGER, l. c. 1897; J. FARMER und J. WILLIAMS, l. c. 1898; SH. YAMANOUCHI, Bot. Gaz., Bd. XLVII, 1909, S. 174.

[2]) J. BEHRENS, l. c. 1886, S. 96.

[3]) M. CAULLERY et A. CHAPPELLIER, Compt. rend. Soc. Biol. Paris, T. LVIII, 1905, S. 454; s. a. H. SCHNEIDER, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXXIII, 1916, S. 248.

[4]) Zum gleichen Zweck kann man unter Umständen auch Watte verwenden. Vgl. dazu die Angaben von F. RAWITSCHER, 1922, in Reg. IV Ustilagineen-Sporen.

[5]) Nach G. LEFÈVRE, Journ. appl. Mikrosc. a. Labor. Meth., Vol. V, 1902, S. 2080.

Die Eier der Fucaceen wurden zu interessanten experimentellen Versuchen über Befruchtung verwandt[1]). Als frei entleerte Eier, deren Befruchtung außerhalb des mütterlichen Organismus vor sich geht, laden sie in der Tat ganz besonders zu Versuchen ein, wie sie im Tierreich an ähnlich freien Eiern ausgeführt werden. — Übt man mittels Deckglas einen gelinden Druck auf Querschnitte durch Konzeptakeln der Fucacee Cystosira barbata aus, so erreicht man, daß ein Teil der Oogonien von ihrer Fußzelle abreißt. Diese Oogonien lassen alsdann durch die Rißstelle an der Basis ihren Inhalt austreten. Die Öffnung ist manchmal so eng, daß sie den Durchmesser des Eikerns kaum überschreitet. Die Entleerung des Oogoniums dauert 5—10 Min. Jedes Oogonium bildet bei diesen Fucaceen nur ein Ei aus. Bei Beginn der Entleerung eines Oogoniums gilt es, das Deckglas rasch emporzuheben, den Schnitt mit der Pinzette zu fassen, zu schütteln und zu entfernen. Man kann das in der Entleerung begriffene Oogonium befreien und es mit einer Pipette auf einen anderen Objektträger übertragen. Dann legt man ein Deckglas auf, das auf entsprechend hohen Glasplättchen ruhen muß. Hierauf wartet man ab, bis etwa die Hälfte des Eies ausgetreten ist, und versucht diese Hälfte mittels eines entsprechend kräftigen Stroms von Seewasser, den man unter dem Deckglas durchleitet, abzureißen. Gelingt alles nach Wunsch, so ist das Ei, da nur ein Kern zur Verfügung steht, in eine kernhaltige und eine kernfreie Hälfte zerlegt worden. Man setzt nun einen Tropfen Seewasser mit lebhaft beweglichen Spermatozoiden hinzu und kann feststellen, daß beide Eihälften, auch die kernfreie, empfängnisfähig geblieben sind. Selbst wenn die eine Eihälfte im Oogonium zurückblieb, dringen die Spermatozoiden durch das im Oogonium erzeugte Loch zu ihr vor. Aus beiden Eihälften lassen sich auf solche Weise, wenn alle Manipulationen glücken, normal aussehende Keimlinge erzielen[2]). Der Eiteil, der ohne Eikern war und somit auf den Spermakern allein angewiesen ist, teilt sich langsamer als der andere. Solche Entwicklung von Eiteilen mit Spermakern allein ist als Merogonie bezeichnet worden. — Bei tierischen Eiern ließen sich künstliche Zerlegungen in Stücke vielfach schon in einfacher Weise, durch Schütteln, erreichen. Andererseits gelang es, größere Eier mit passenden Instrumenten unter dem Präpariermikroskop zu zerschneiden. Ähnliche Operationen wurden auch an jüngsten Keimanlagen vorgenommen, um daran das Verhalten der voneinander getrennten Furchungszellen zu verfolgen. — Durch Essigsäure oder Buttersäure lassen sich auch unbefruchtete Fucus-Eier zur Weiterentwicklung anregen[3]).

Als Beispiel für die Organisation einer Rotalge wählen wir die Süßwasserfloridee Batrachospermum und zwar Batrachospermum moniliforme. Sie stellt jene an Steinen, Holz usw. festsitzenden, blau- bis graugrünen

---

[1]) Hans Winkler, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXVI, 1901, S. 763. Dort auch die zoologische Literatur.

[2]) Durch Druck und auch durch Zerschneiden hatte J. Rostafinski schon 1877 (Krakauer Akad. d. Wiss., Sitzber. vom 20. April des gen. Jahres) die Fucus-Eier in Teilstücke zerlegt, dann ihre Befruchtung versucht. Diese gelang ihm nur an Eistücken, die, seiner Angabe nach, alle drei plasmatischen Bestandteile des unversehrten Eies enthielten: die innere, farblose, feinkörnige Masse, die sie umgebende, grobkörnige, farbige Schicht und die äußerste, sehr dünne, farblose Hülle.

[3]) Vgl. das Nähere bei J. B. Overton, Science, Bd. XXVII, 1913, S. 841 ff. S. a. A. Ernst, Bastardierung als Ursache der Apogamie im Pflanzenreich, Jena, 1918, S. 173.

Zotten dar, die wir in Bächen, Teichen und Torfwässern vielfach finden. Wegen ihres durch regelmäßig angeordnete, büschelige Seitenast-Wirtel veranlaßten, perlschnurartigen Aussehens der zudem gallertig sich anfühlenden, verzweigten Sprosse führt sie den Namen Froschlaichalge. Unter-

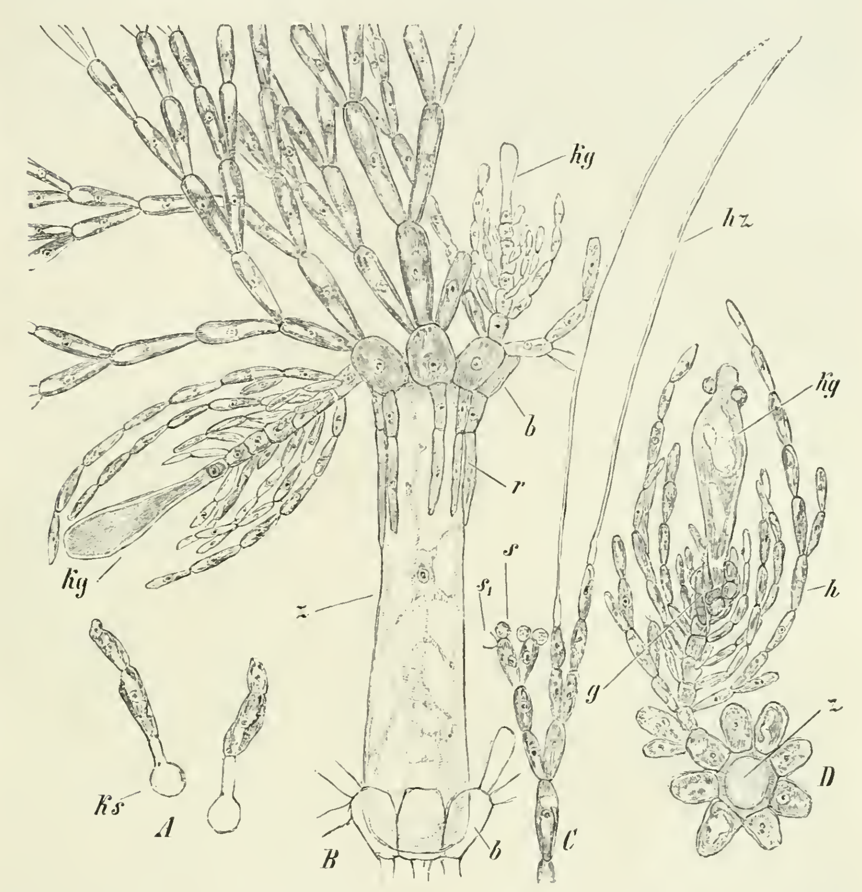


Fig. 200. Batrachospermum moniliforme. *A* Ausgekeimte Karposporen, *ks* Karpospore, *B* Teil eines Quirls und der Gipfelregion eines Batrachospermum-Pflänzchens, *z* Zelle des Hauptfadens, *b* Basalzellen des Quirls, *kg* Karpogon, *r* Berindungsfäden, *C* Ende eines Antheridialastes; bei *s* reifes, bei s' bereits entleertes Antheridium, *hz* Haarzelle. *D* Astquirl von oben gesehen, nur die von der Hauptfadenzelle *z* entspringenden Basalzellen *b* der Zweige sind dargestellt, mit Ausnahme eines Karpogonastes, dessen befruchtetem Karpogon *kg* noch 2 Spermatien ansitzen. *h* Hüllfäden um die bei *g* sich bildenden Gonimoblasten. Vergr. ca. 500.

suchen wir einen frischen Sproßteil dieser Alge im Wassertropfen oder auch Alkohol-Material in Glyzerin[1]) unter Mikroskop, so erkennen wir schon bei schwächerer Vergrößerung die von einem durchgehenden Achsenfaden aus kräftigen, langen, zylindrischen, einkernigen Zellen (Fig. 200*Bz*) von be-

[1]) Zum eingehenden Studium namentlich des Zellinhalts bei Batrachospermum muß das Material entsprechend vorbehandelt werden. Vgl. über Fixierung u. Färbung der Rotalgen dieses Praktikum S. 411, auch Reg. IV Batrachospermum.

sonderen Basalzellen (Fig. 200 *Bb*) entspringenden, abstehenden, dichte Quirle bildenden, reichlich verzweigten Äste, daneben solche, die sich dem Achsenfaden als unverzweigte Berindungsfäden (*r*) nach unten anlegen. Die Basalzellen der Seitenäste stehen zu 6 oder 8 um das obere Ende jeder Zelle des Achsenfadens (Fig. 200 *Db* und *z*). Die gabelige Verzweigung der von ihnen entspringenden Quirläste ist nicht auf echte Dichotomie zurückzuführen, sie kommt vielmehr dadurch zustande, daß am Ende eines Zellfadengliedes eine Zelle aussproßt, die zu einem neuen Faden wird. Die Endzellen dieser Quirlästchen laufen vielfach in feine, lange Haare aus (Fig. 200 *Chz*), die vielleicht im Dienste der Ernährung stehen oder auch dem Lichtschutz dienen. Besonders auffallend sind bei diesen die ein stark lichtbrechendes Plasma enthaltenden Enden, in denen sich mit Hämatoxylin leicht ein kleiner Zellkern nachweisen läßt. Dadurch, daß die einzelnen von schleimiger Gallerte umhüllten Quirle jedesmal um die Länge einer Zelle des Hauptfadens voneinander entfernt sind, wird das perlschnurförmige Aussehen der Thallusauszweigungen bewirkt. Im Herbst gesammelte Froschlaichalgen weisen in der Regel Geschlechtsorgane[1]) auf. Diese sitzen auf besonderen Ästchen in den Zweigquirlen. Die männlichen Ästchen sind in ihrem Aufbau den vegetativen sehr ähnlich und enthalten wie diese assimilierende Chromatophoren, die weiblichen sind kürzer und so zunächst im Gewirr der Quirlästchen verborgen. Aus den Endzellen der männlichen Ästchen sprossen meist in Zweizahl die rundlichen Antheridien (Spermatangien) hervor. Jedes Antheridium besteht aus einer Zelle, deren gesamter Plasmainhalt (Fig. 200 *C*) zu einem Spermatium wird. Als nackte Zellen treten die Spermatien aus ihren Antheridien hervor. Da sie sich nicht selbständig bewegen können, werden sie durch die Strömung des Wassers weitergeführt und gelangen schließlich zu den weiblichen Organen. Diese sitzen zwischen den männlichen Ästchen und lassen sich in den Präparaten leicht durch Beklopfen des Deckglases aus den Astbüscheln der Zweigspitzen isolieren. Es zeigt sich da am Ende eines mehrzelligen Fadens mit mehr oder weniger stark ausgebildeten Seitenzweigen eine große Zelle, die im unteren Teil flaschenförmig angeschwollen, im oberen keulenähnlich gestaltet ist, das Karpogon (Fig. 200 *B kg*, *D kg*). Der untere Teil enthält in seinem Plasma u. a. den Eikern, der obere stellt ein Empfängnisorgan dar, das Trichogyn. An ihm bleiben die durch die Wasserströmung herangeführten Spermatien haften (Fig. 200 *D*), umgeben sich mit Membran und entlassen ihren Inhalt durch eine unterdes entstandene Öffnung in das Karpogon, wobei die Membranhüllen zurückbleiben. Durch Verschmelzen von Spermakern und Eikern wird die Befruchtung vollzogen. Es grenzt sich dann die Eizelle von dem Trichogyninhalt ab. Aus der befruchteten Eizelle wird nicht direkt die Oospore, vielmehr treten nach der Befruchtung aus dem Bauchteil des Karpogons seitlich Zellen bzw. Zellfäden hervor, die sich weiter verzweigen. Diese stellen sporogene Fäden oder Gonimoblasten dar (Fig. 200 *D* bei *g*). Sie sind wegen ihrer dichten Anordnung nicht immer deutlich in ihren Einzelheiten zu beobachten, zumal auch noch aus den Tragzellen der befruchteten Karpogone Hüllzweige hervorsprossen, die, sich an die Gonimoblasten anlegend, eine sog. Hüllfrucht, Zystokarp, bilden. Aus den kugelig

[1]) Vgl. u. a. H. Kylin, Ber. d. deutsch. bot. Ges., Bd. XXXV, 1917, S. 155 ff. Dort auch die ältere Literatur.

anschwellenden Endzellen der sporogenen Fäden entwickeln sich nun die einen Kern und ein Chromatophor führenden Karposporen. Sie werden als nackte Protoplasten entleert und keimen, nachdem sie sich mit einer Zellwand umgeben haben, aus (Fig. 200 *A*). Die Karposporenkeimlinge werden zu Vorkeimpflänzchen, die dadurch, daß aus den Endzellen Sporen, sog. Monosporen austreten, zur Vermehrung beitragen. Auch vegetative Sprossung an den Vorkeimen kann zur Bildung neuer Batrachospermum-Pflänzchen führen. Tetrasporenbildung kommt bei Batrachospermum nicht vor, sie wird durch die Sporenbildung am Vorkeim ersetzt.

XXIII. Abschnitt.

Fortpflanzung der Pilze.

Fixieren und Färben der Pilze. Pilzkulturen auf dem Objektträger. Verschiedene Nährböden und Nährflüssigkeiten für Pilze. Feuchte Kammern. Chemotropismus der Pilze. Eindringen der Keimschläuche in die Nährpflanze.

Untersuchungsmaterial.

Mucor Mucedo. Phytophthora infestans. Penicillium crustaceum. Alle diese Objekte frisch.

Saprolegnia monoica, frisch.

Wichtigste Reagentien.

Jodjodkaliumlösung. — Glyzerin. — Alkohol. — Hämatoxylin.

Legt man ein Stückchen feuchtes Brot unter eine Glasglocke, so bedeckt es sich schon nach wenigen Tagen mit einem dichten Filz von Pilzfäden, die fast immer einem Phycomyceten, dem Kopfschimmel, Mucor Mucedo [1]), angehören. Sehr üppig zeigt sich derselbe Pilz ferner auf frischem Mist, den man in einem abgeschlossenen, feuchten Raum hält. Aus dem Substrat erheben sich aufrechte, bis mehrere Zentimeter hohe Sporangienträger, die sich nach der Lichtquelle wenden und mit je einem kugelrunden, gelben bis braunen Köpfchen abschließen, das mit der Lupe leicht zu sehen ist. Hebt man etwas Untersuchungsmaterial vorsichtig von dem Substrat ab und bringt es in einen Wassertropfen, so kann man bei hinreichend starker Vergrößerung feststellen, daß das Myzel aus dicken, reich verzweigten, unregelmäßig septierten Schläuchen besteht, und daß aus diesen die geraden, unseptierten und unverzweigten Sporangienträger entspringen, die oben je ein kugelrundes Köpfchen, das Sporangium, tragen. Solange dieses noch unreif ist, zerfällt es im Wasser nicht und zeigt sich mit gelbbräunlichem Protoplasma erfüllt. In jüngsten Zuständen ist das Sporangium gegen den Sporangienträger noch nicht abgegrenzt; weiterhin entsteht eine in das Innere des Sporangiums stark vorgewölbte Scheidewand, so daß der Sporangienträger innerhalb des Sporangiums mit einer Anschwellung, der sog. Columella, endet. Die Wand des reifen Sporangiums zerfließt im Wasser; es bleiben von ihr nur kleine, aus feinen Nadeln gebildete Bruchstücke zurück, von denen nachgewiesen ist, daß sie aus oxalsaurem Kalk bestehen. Die entleerten Sporen liegen in ziemlich regelmäßigen Abständen voneinander, und man stellt durch Rücken des Deckglases fest, daß sie in einen farblosen Schleim eingebettet sind. An dem Sporangienträger ist unterhalb der Columella meist ein kleiner

---

[1]) O. Brefeld, Schimmelpilze, Heft 1, 1872, S. 10ff. Dort die ältere Literatur; ferner W. Giesebrecht, Diss., Würzburg, 1915.

Kragen als Rest der hier ansetzenden Kalkkruste zu sehen. In dem zytoplasmatischen Wandbeleg nicht zu alter Fruchtträger kann man zierliche, der Hauptsache nach in der Längsrichtung verlaufende Ströme verfolgen. Die Mucorschläuche sind vielkernig, die Kerne sehr klein und nur durch entsprechende Färbungen nachzuweisen. Auch ihre Sporen sind durch Vielkernigkeit ausgezeichnet[1]). In frischem, flach ausgebreitetem Pferdemist, bildet der Pilz im Frühjahr gelegentlich die gleichfalls vielkernigen Zygoten, die sich als schwarze Punkte präsentieren[2]). Da Mucor Mucedo heterothallisch ist[3]), d. h. getrenntgeschlechtliche Thalli bildet, so können Zygoten in der Kultur nur entstehen, wenn männliche und weibliche Thalli in ihr vertreten sind. Die Zygoten werden dann durch Kopulation der Enden keulenförmig angeschwollener Myzelfäden[4]) (Cönogameten) gebildet. An der reifen, schwarzen, mit Warzen besetzten Zygote sieht man die gegenüberliegenden Ansatzstellen dieser beiden Myzelfäden als hellere, kreisförmig umschriebene Stellen. — Auch homothallische, d. h. hermaphrodite Mucorineen sind bekannt.

Die Membranen der Mucorineenhyphen bestehen nach MANGIN aus Zellulose und Pektinverbindungen. Die Sporangienträger sind mit Kalk inkrustiert. Die Membran der Sporangien verhält sich je nach deren Alter verschieden. An den jungen Sporangien besteht sie aus Zellulose und Pektinverbindungen. Später wird ihr von innen noch eine Schicht[5]) aufgelagert, wobei die Zellulose verschwindet und durch Kalkabscheidungen ersetzt wird, bis schließlich die Sporangienwand nur noch aus diesen und der zuletzt gebildeten Schicht besteht. In der Zygosporen-Membran lassen sich fünf Schichten unterscheiden. Die innerste ist dünn und körnig, gibt mit Jod und Schwefelsäure rotbraune, mit Hämatoxylin intensiv violette Färbung. Die zweite, dickere zeigt nach Vorbehandlung mit Salzsäure und Chlorkali Zellulose-Reaktion. Das nun folgende dünne Häutchen läßt sich erkennen, wenn man auf mechanischem Wege die äußeren Schichten der Zygosporenmembran entfernt und den Rest mit Schwefelsäure behandelt, wobei die zweite Schicht gelöst wird. Die vierte Schicht ist dick, braun bis schwärzlich gefärbt und besteht aus Zellulose, die mit eiweiß-ähnlich reagierenden Stoffen imprägniert ist. Das Ganze ist von einem dünnen Häutchen als fünfter Schicht bedeckt[6]).

---

[1]) Über das Verhalten der Kerne bei der Bildung der Sporen verschiedener Mucorineen vgl. F. MOREAU, Bull. soc. d. Sc. France, Bd. XXXI, 1915, S. 71.

[2]) Über andere bei gewissen Mucorineen unter bestimmten Bedingungen auftretende, der Fortpflanzung und Vermehrung dienende Gebilde, wie Azygosporen, Chlamydosporen, Kugelzellen u. ä. vgl. die Zusammenstellung von C. WEHMER in F. LAFAR, Handb. d. techn. Mykologie, Bd. IV, 1905—07, S. 461 ff.

[3]) A. F. BLAKESLEE, Ann. Mycolog., Vol. IV, 1906, S. 1; s. a. Derselbe, in Bot. Gaz., Bd. XLII, 1906, S. 161; ferner Ebenda, Bd. XLIII, 1907, S. 415 und Bd. XLVII, 1909, S. 418; dann H. BURGEFF, zuletzt Flora, Bd. CVIII, 1915, S. 435; schließlich F. MOREAU, Bull. Soc. bot. France, Bd. LXI, 1914, S. 6. Vgl. dazu G. ORBAN, Beih. z. bot. Zentralbl., 1. Abt., Bd. XXXVI, 1919, S. 1 ff. und G. HERTWIG, Biol. Zentralbl., Bd. XLI, 1921, S. 49 ff.

[4]) Über deren Natur vgl. P. CLAUSSEN, Verhandl. d. bot. Ver. d. Prov. Brandenburg, Bd. LVI, 1914 bzw. 1915, S. (28) ff.

[5]) Besteht nach L. MANGIN, Journ. de Bot., Bd. XIII, 1899, S. 209, aus Kallose.

[6]) Nach P. VUILLEMIN, Bull. Soc. d. Sc. Nancy, 3. Sér., T. IV, 1903, S. 239, und Ann. mycolog., Bd. II, 1904, S. 483, der die von innen nach außen folgenden Schichten als „Matrice de la membrane, assise cartilagineuse, cuticelle médiane, assise charbonneuse“ und „cuticelle externe“ bezeichnet.

Trägt man unversehrtes Material in Alk. abs., in Chromsäure, Chromsäuregemische oder Pikrinsäure ein und färbt hierauf in entsprechender Weise, so bekommt man im Wandbeleg der Myzelschläuche wie der Sporangienträger, die zahlreichen kleinen, durch Plasmastränge verbundenen Zellkerne zu sehen. Diese sind auch im Sporangium und, wenn auch schwieriger, in den Sporen nachzuweisen. Am besten hat sich für die Fixierung der Pilze die schwächere Flemmingsche Lösung bewährt und für das daraufolgende Färben, Safranin-Gentianaviolett-Orange. In den meisten Fällen mußte die Safraninlösung 1/2 Std., das Gentianaviolett 15 Min., das Orange nur sehr kurze Zeit einwirken. Dann wurde mit Alkohol und Nelkenöl rasch ausgewaschen (s. S. 84). Bei Herstellung von Dauerpräparaten bewährte sich venez. Terpentin, auch Glyzerin (s. S. 410ff.). — Sind die Hyphen der Pilze zu dick, als daß auf diesem einfachen Wege der Zellinhalt in seinen einzelnen Teilen gut sichtbar gemacht werden könnte, so muß man die Untersuchung an Mikrotomschnitten vornehmen (vgl. dazu Reg. IV Pilze, Fixierung und Färbung).

Mucor Mucedo ist ein geeignetes Objekt, um uns in Pilzkulturen auf dem Objektträger einzuführen[1]); die hier zu sammelnden Erfahrungen sollen dabei jene ergänzen, die wir bei den Bakterien gewonnen haben. Wir bereiten uns eine den Bedürfnissen dieses Mucors entsprechende Nährflüssigkeit, indem wir Pferdemist in Wasser auskochen. Das erhaltene Dekokt wird klar abfiltriert, dann wieder längere Zeit gekocht, um es zu sterilisieren. Die zu benutzenden Objektträger und sonstigen Glasgeräte führt man aus gleichem Grund durch eine Spiritus- bzw. Gasflamme, oder legt sie vor Beginn des Versuches für kurze Zeit in Alk. abs., hierauf in Äther, der rasch nach dem Herausnehmen verdunstet. Es empfiehlt sich auch, die zur Verwendung kommenden Glassachen in 10-proz. Salzsäure aufzubewahren, erst vor dem Gebrauch herauszunehmen und mit seit Stunden kochendem Aq. dest. auszuspülen. Auf so gereinigten Gläsern läßt sich dann auch der Nährlösungstropfen gut ausbreiten, was von nicht geringem Vorteil ist[2]). Es gilt nun, eine Spore zur Aussaat zu bringen. Dies wird auf folgende Weise erreicht[3]). Man überträgt mit der Pinzette aus einer rein gehaltenen Kultur ein Sporangium in ein Uhrschälchen, das mit abgekochtem Wasser erfüllt ist. In diesem haben die Sporen, durch die quellende Zwischensubstanz, die sie trennt, auseinander getrieben, sich alsbald gleichmäßig verteilt. Ist die Zwischensubstanz aufgelöst, so wird mit einer in der Flamme desinfizierten Nadel ein Tröpfchen Flüssigkeit aus dem Uhrgläschen genommen und in langgezogenem Strich auf den Objektträger aufgetragen. Dieser Strich wird hierauf unter dem Mikroskop durchmustert. Enthält er nur eine Spore, so ist er ohne weiteres für die Kultur geeignet; sind im Strich mehr als eine Spore vertreten, so wird der Überfluß mit einem Läppchen weggewischt. Auf die Spore wird hierauf ein Tropfen von der Nährlösung gebracht, der Objektträger auf das Zinkgestell der feuchten Kammer gesetzt und mit einer Glasglocke überdeckt, deren

[1]) Vgl. O. Brefeld, Verh. d. Phys.-med. Gesellsch. in Würzburg, Febr. 1874; Landw. Jahrb., IV. Jahrg., H. 1, 1875; Sitzber. der nat. Freunde zu Berlin, 15. November 1875.

[2]) Vgl. auch die Angaben auf S. 508.

[3]) Vgl. a. S. L. Schouten, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. XXXI, 1905, S. 10 ff.; und A. W. Nieuwenhuis, Versl. gew. Vergad., Naturk. Afd. Kon. Akad. van Wetensch., Amsterdam, 1910, S. (525) ff. und die Methode von O. Hagem, Reg. IV Pilze Rein-Kultur.

Ränder in Wasser tauchen. Bei mangelnder Übung wird man besser tun, die Sporen erst einige Stunden in dem Uhrgläschen, dessen Wasser man einige Tropfen Nährlösung zusetzt, liegen zu lassen. Die Sporen schwellen nämlich in dieser Zeit auf das Zehnfache an und sind daher leichter in dem auf den Objektträger gestrichenen Tröpfchen zu entdecken und zu zählen. Bei der eben erwähnten Größenzunahme geht die Spore aus der zylindrisch-eiförmigen Gestalt in die kugelige über. In der Mitte der Spore hat sich eine große Vakuole ausgebildet. Hierauf treten meist mehrere Keimschläuche aus der Spore hervor, wachsen sehr rasch und bilden nach Ablauf eines Tages, wie wir durch wiederholte Beobachtungen unter dem Mikroskop feststellen, ein vielfach verästeltes Myzel. Die aufeinanderfolgenden Generationen der Äste nehmen an Dicke allmählich ab. Das Myzel zeigt zunächst keine Scheidewände und ist mit dichtem, körnigem, plasmatischem Inhalt, der von Vakuolen durchsetzt wird, erfüllt. Bei einer bestimmten Größe hört die weitere Verzweigung auf, das Plasma wird körniger und dunkler und fängt an, gegen die Mitte des Myzels vorzudringen. Hier hebt sich der Sporangienträger als dicker Ast aus der Flüssigkeit empor. Bei einer bestimmten Größe wird das Köpfchen angelegt, das Plasma des Myzels wandert der Hauptmasse nach in die Sporangialanlage ein und wird in entsprechendem Maße durch wässr. Zellsaft ersetzt. Das Sporangium wird durch die vorgewölbte Scheidewand abgegrenzt; sein Inhalt sondert sich in einzelne, deutlich voneinander gesonderte Partien, die Sporen. Ist das Sporangium reif, so streckt sich der Sporangienträger rasch um etwa das Zehnfache seiner Länge. In dem Myzel sind zuvor schon Scheidewände gebildet worden. Dieser Entwicklungszustand ist in spätestens 3 Tagen erreicht. — Im Hinblick auf die leichte Kultur und die rasche Entwicklung dieses Pilzes dürfen wir es keinesfalls versäumen, uns Objektträgerkulturen von ihm anzulegen, auch wenn wir darauf verzichten wollen, gerade nur eine Spore zur Aussaat zu bringen. Mehrere Präparate sind aber für alle Fälle nötig, um alle Einzelheiten der Entwicklung festzustellen, da wir zum eingehenderen Studium der Präparate Deckgläser auflegen und damit die Kultur zerstören müssen. Bei hinreichend starker Vergrößerung werden wir in solchen Präparaten auch leicht Protoplasmaströmungen, besonders schöne längs der Wand der Sporangienträger, verfolgen können. — Aus einzelnen Sporen erzogene, schön strahlig entwickelte Kulturen benutzen wir, um uns Dauerpräparate herzustellen, und zwar noch vor der vollen Reife des Sporangiums, somit auch vor der Streckung des Sporangienträgers. Zu diesem Zweck fixieren wir das Objekt, indem wir es auf dem Objektträger mit der fixierenden Flüssigkeit vorsichtig übergießen, dann dort auch färben und einschließen (s. S. 504). In der Mitte eines solchen Präparats ist dann meist auch die Spore, aus der die Kultur hervorging, als schwache Anschwellung zu erkennen.

Auf dem Objektträger kommt es nur zur Bildung von Sporangien, hier und da von mehreren an demselben Individuum; um die Geschlechtsorgane und Zygosporen zu sehen, durchmustern wir zunächst Massenkulturen auf Pferdemist, wo leicht männliche und weibliche Thalli vertreten sein können und damit die Hauptbedingung zur Zygotenbildung gegeben ist. Die Zygosporen heben sich, wenn vorhanden, als schwarze Punkte von dem Mist ab. Überträgt man einen solchen Punkt vorsichtig auf den Objektträger, so kann man, wenn wirklich eine Mucor-Zygospore vorliegt, sie als schwarze, mit warzenförmigen Vorsprüngen besetzte Kugel erkennen. An die Kugel

setzen, falls sie bei der Übertragung nicht abgerissen wurden, was sehr leicht geschieht, an zwei entgegengesetzten Seiten ziemlich dunkel gefärbte Myzelfäden an. Sind diese Myzelfäden abgerissen worden, oder hatten sie sich zuvor schon von der Zygospore abgetrennt, so erkennt man ihre Ansatzstellen als helle, kreisförmig umschriebene Flecke. Diese werden besonders gut sichtbar, wenn man die Zygospore zerdrückt. Der Inhalt der Zygospore besteht, wie sich hierbei zeigt, aus feinkörnigem Protoplasma und Öl[1]). Unter den reifenden Zygosporen findet man jüngere, weniger dunkle, dann auch farblose, denen noch die warzenartigen Erhebungen fehlen. Es gelingt unter Umständen auch, Myzelteile zur Anschauung zu bringen, in denen die Zygosporenbildung eben begonnen hat. Man sieht zwei an ihren Enden keulenförmig angeschwollene, inhaltsreiche Myzelfäden, die mit ihren Scheitelflächen verbunden sind. Zu beiden Seiten dieser Scheitelflächen, und zwar parallel zu ihnen, hat sich in geringer Entfernung je eine Scheidewand gebildet. Auf etwas älteren Zuständen fehlt die mittlere, der Kontaktfläche der beiden Geschlechtsorgane entsprechende Wand, und der Inhalt beider Zellen hat sich vermischt. Die Zygospore rundet sich hierauf ab und vergrößert sich; die beiden anstoßenden, keulenförmig angeschwollenen Myzelfäden bilden die Suspensoren.

Der Beweis, daß die beobachteten Zygosporen wirklich zu Mucor Mucedo gehören, kann erst bei ihrer Keimung geliefert werden. Die Zygosporen werden, wo einmal die Bedingungen für ihre Bildung vorhanden sind, in größeren Mengen erzeugt. Man kann sich dann zahlreiche Zygosporen durch Ausschlämmen des betreffenden Mists mit Wasser verschaffen[2]). Die reifen Zygosporen sinken in diesem unter. Sie werden sorgfältig ausgespült und auf Objektträger unter eine mit Wasser abgesperrte Glocke gelegt. Nach etwa 6 Wochen beginnt die K e i m u n g, und zwar treibt jede Zygospore meist nur einen dicken Keimschlauch, der ein Sporangienträger ist und mit dem charakteristischen Sporangium von Mucor Mucedo abschließt. Für den Austritt des Sporangienträgers wird die schwarze Sporenhaut nur so weit, als eben notwendig, aufgerissen; die Entwicklung des Sporangiums geht relativ langsam vor sich; erst am dritten Tage nach Beginn der Keimung ist sie vollendet.

In den Monaten März und April kann man die Pilzrasen meist zur Zygosporenbildung anregen, wenn man die Sporen in frischem, flach ausgebreitetem Pferdemist aussät. Die Zygosporen sind in 8—14 Tagen fertig. Auch gelingt es wohl zu einer anderen Zeit, die Zygosporen zu erhalten, wenn man die Aussaat in einigen Tropfen konz., durch längeres Kochen sterilisierten, alsdann mit 10—20-proz. Alkohol versetzten Pflaumensaftes ausführt. Die Aussaat erfolgt auf Deckglas in der aus einem Glasring hergestellten, feuchten Kammer (S. 150), wonach die Objektträger in einen als große, feuchte Kammer dienenden Gipskasten gesetzt werden (S. 510)[3]).

Beim Studium von Mucor Mucedo ist zu beachten, daß er auf dem Mist gewöhnlich von zwei anderen, parasitisch auf ihm lebenden Mucorineen, dem Chaetocladium Jonesii und der Piptocephalis Freseniana begleitet wird[4]).

---

[1]) Vgl. im übrigen E. Gruber, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XIX, 1901, S. 51; A. Lendner, Les Mucorinées de la Suisse, Bern, 1908, u. a.

[2]) O. Brefeld, l. c. 1872, S. 22.

[3]) Vgl. G. Bainier, Ann. d. sc. nat., Bot., 6. sér., Bd. XV, 1883, S. 345, R. Falck, Cohns Beitr. z. Biol. d. Pfl., Bd. VIII, 1901, S. 213. S. a. H. Burgeff, Zeitschr. f. Bot., Bd. XII, 1920, S. 20.

[4]) O. Brefeld, l. c. 1872, S. 33, u. H. Burgeff, l. c. 1920, S. 1 ff.

An Mucor Mucedo nahmen wir Gelegenheit, uns mit Pilzkulturen auf dem Objektträger vertraut zu machen. Wir haben das Verfahren bei der Aussaat nur einer Spore, die Anwendung der Nährflüssigkeit und die einzuhaltenden Vorsichtsmaßregeln kennengelernt. Wir wollen diesen Ausgangspunkt benutzen, um uns über die Methoden, die bei Pilzkulturen in Betracht kommen, überhaupt zu orientieren. Da wäre zu der Aussaat einer einzelnen Spore noch zu bemerken, daß öfters die Benetzung und somit auch die Verteilung der Sporen im Wasser nur langsam erfolgt und daß dann auf diese Verteilung zu warten ist, bevor man zu der Übertragung eines Tröpfchens auf den Objektträger schreitet. Bei sehr kleinen Sporen ist es ratsam, auch das Maximum ihrer Anschwellung dabei abzuwarten. Wie wir bei Mucor sahen, geht diese Anschwellung der Keimung voraus; sie kann den höchsten Punkt je nach Umständen in wenigen Stunden oder erst in einem ganzen Tage erreichen. Die angeschwollenen Sporen sind dann leichter in dem langgestrichenen Tröpfchen auf dem Objektträger zu sehen. — Das Dekokt aus Pferdemist, das wir bei Mucor anwandten, ist meist wenig haltbar und daher vorwiegend bei Pilzen zu gebrauchen, die rasch ihre Entwicklung vollenden; bei solchen von längerer Entwicklungsdauer kann man unter Umständen alle paar Tage den vorhandenen Tropfen mit einer Pipette vorsichtig aufsaugen und durch einen neuen ersetzen. Relativ am haltbarsten wird das Mistdekokt, wenn man den Mist mit Wasser aufrührt, kocht, abfiltriert und das Filtrat 24 Std. im Dampfbad läßt[1]). — Sehr brauchbar ist in vielen Fällen ein kalter Auszug aus getrockneten Früchten, wie Rosinen, Birnen, Pflaumen. Ein solcher Auszug wird klar abfiltriert und bis auf Sirupdicke eingedampft. Er hält sich jahrelang unverändert und kann nach Bedarf zu Kulturzwecken in zuvor gut ausgekochtem Wasser in entsprechendem Verhältnis aufgelöst werden. Reagiert die Flüssigkeit sauer, so wird sie unter Umständen mit Ammoniak neutralisiert, da manche Pilze die aus den Früchten stammenden Säuren nicht vertragen. — Auch Bierwürze ist zu empfehlen (s. S. 521). Man kocht sie in einem Kolben auf, der oben mit einer doppelten Lage Fließpapier überbunden ist. Sie hält sich hierauf jahrelang unverändert und ist schon nach einem Monat vollkommen klar. Sehr bewährt hat sich auch die Benutzung der konz. Bierwürze und eines konz., aus weißen Trauben gewonnenen Mostes (s. S. 522). In manchen Fällen sind Dekokte von frischen oder getrockneten Pflanzenteilen, von Heu, Wurzeln, Holz u. dergl. vorzuziehen. In anderen leistet ein Dekokt von Hefe mit größerem oder geringerem Zuckerzusatz, oder auch eine verd. Lösung von Fleischextrakt mit oder ohne Zucker gute Dienste. Eine sehr gute Nährstofflösung gibt auch gekochter und filtrierter Orangensaft[2]). Sein Säuregehalt verhindert die Entwicklung der Infusorien; nur der blaugrüne Schimmel (Penicillium crustaceum) ist im wesentlichen in solchen Kulturen zu fürchten. — Eine künstliche Nährlösung[3]) kann man sich aus 10-proz. Traubenzucker in Wasser mit $^1/_4$—$^1/_2$-proz. salpeters. Ammoniak und ebensoviel Zigarrenasche bereiten. Man kocht und setzt soviel Zitronensäure hinzu, daß die Lösung eine Spur sauer reagiert. Oder man nimmt Kalziumnitrat 4 g, Kaliumphosphat 1 g, Magnesiumsulfat 1 g,

---

[1]) O. Brefeld, Schimmelpilze, Heft IV, 1881, S. 5.

[2]) Ph. van Tieghem und G. le Monnier, Ann. d. sc. nat., 5. sér., T. XVII, 1873, S. 266.

[3]) Vgl. O. Brefeld, l. c., 1881, S. 6.

Kaliumnitrat 1 g auf 700 ccm Wasser[1]). Als Normalflüssigkeit aus Zucker, Ammoniak und Asche, die sich für die meisten ohne Gärung verlaufenden Kulturversuche eignet, kann folgende bezeichnet werden: Wasser 100 ccm, Zucker 3 g, Ammoniumtartrat 1 g, mit Phosphorsäure neutralisierte Asche von Erbsen, Weizenkörnern oder Zigarren 0,4 g oder Hefeasche in etwas geringerer Menge[2]). Auch Hefepilze gedeihen vortrefflich in einer schwachsauren Flüssigkeit; folgende Nährlösung ist für sie geeignet; Wasser 100 ccm, Zucker 15 g, salpeters. Ammoniak 1 g, saures phosphors. Kali 0,5 g, dreibasisch phosphors. Kalk 0,05 g und schwefels. Magnesium 0,25 g (oder krist. schwefels. Magnesium 7 H_2O enthaltend, 0,5 g[3]). — Die Anforderungen, welche die verschiedenen Pilze an das Substrat stellen, können somit verschieden sein, und nur längere Erfahrung belehrt über die richtig zu treffende Wahl der Nährlösung. Im allgemeinen wird aber der Standort des Pilzes uns in der Wahl leiten, wir werden dem auf Mist wachsenden Pilz beispielsweise Mistdekokte, dem auf faulenden Blättern wachsenden Blattaufgüsse bieten.

Gilt es, die Beobachtung längere Zeit unter dem Mikroskop fortzusetzen, so lassen sich flüssige Nährstoffe frei auf dem Objektträger nicht verwenden, da sie der Verdunstung und der Infektion durch fremde Keime aus der Atmosphäre ausgesetzt sind. Dann hilft, wie bei den Bakterien (vgl. S. 473), Zusatz von Gelatine o. ä. zur Kulturlösung. Es wird soviel reinste Gelatine oder Karagheen in der kochenden Nährlösung aufgelöst, daß letztere bis zu etwa 25° flüssig bleibt und weiter erkaltend fest wird. Hat man eine Spore auf dem Objektträger in schon besprochener Weise übertragen, so setzt man ihr einen Tropfen eben noch flüssiger Nährlösung auf und breitet ihn so dünn aus, daß die Beobachtung der Spore selbst bei starker Vergrößerung möglich ist. Oder man macht die Aussaat auf ein Deckglas, das man hierauf umkehrt und mit den Rändern auf eine feuchte Kammer legt. Die Sporen keimen in den gelatinierten Nährlösungen in gewohnter Weise, oft noch besser als in flüssigen. Bei Aussaaten ohne Deckglas empfiehlt es sich, über dem Präparat am Tubus des Mikroskops einen kleinen Schirm anzubringen, der das Präparat vor fremden Keimen schützt. Man kann im übrigen auch zu solchen dauernden Kulturen sterile Objektträger (s. a. S. 504) benutzen, die, durch Eintauchen in flüssiges Nähragar, etwa Malz-Agar (5 % Malzextrakt, 10 % Agar), mit einer sehr dünnen Schicht überzogen, in Schalen gelegt werden, wo sie ankleben. Die betreffenden Pilzsporen sind darauf in entsprechender Verdünnung mit sterilem Wasser auszusäen und Keimung und Wachstum bei umgewendeter Schale zu beobachten. Die gewünschten Stadien können dann mit FLEMMINGschem Gemisch fixiert und weiter behandelt werden[4]). Es sei darauf hingewiesen, daß viele Pilzsporen nur auf Gelatine, nicht aber auf Agar keimen und weiter wachsen. Andererseits treten in Agar-Kulturen leichter Kopulationsvorgänge auf[5]). — Zum Zweck dauernder Beobachtung hat sich besonders die Verwendung von feuchten Kammern bewährt. In vielen Fällen wird der von uns schon angewandte Papp-

[1]) PH. VAN TIEGHEM und G. LE MONNIER, l. c. 1873, S. 266.

[2]) C. NÄGELI, Sitzber. d. math.-phys. Kl. d. Bayr. Akad., 1880, S. 468, u. Unters. über nied. Pilze, 1882, S. 61.

[3]) Nach A. MEYER, vgl. bei C. NÄGELI, l. c. 1880, S. 469, und l. c. 1882, S. 61.

[4]) Nach H. KNIEP, Zeitschr. f. Bot., Bd. IX, 1917, S. 83, bzw. H. BURGEFF, Ebenda, Bd. XII, 1920, S. 3 und M. HIRMER, Ebenda, 1920, S. 658. S. a. Reg IV Pilze.

[5]) Nach H. KNIEP, Zeitschr. f. Bot., Bd. XI, 1919, S. 259.

rahmen (vgl. S. 469) seinen Dienst tun, wenn wir nur zuvor für entsprechende Sterilisierung aller Teile sorgen, reine Nährlösung anwenden und nur eine Spore aussäen. Solche Pappkammern empfehlen sich besonders dort, wo die Kultur nicht allzu lange dauert; wo letzteres der Fall, sind die ebenfalls schon früher (s. S. 150) angegebenen Glaskammern vorzuziehen, die entweder aus einem hohlgeschliffenen oder einem mit aufgekittetem Glasring versehenen Objektträger mit aufgelegtem Deckglas bestehen[1]). Die ringförmigen, feuchten Kammern können mit seitlichen Öffnungen und in diese eingelassenen Glasröhren versehen sein, welche, mit einem Aspirator und Gasometer in Verbindung gebracht, es ermöglichen, den Flüssigkeitstropfen mit einer bestimmten Atmosphäre zu umgeben. Eine weitere, die

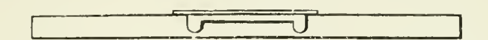


Fig. 201. RANVIERsche feuchte Kammer im Durchschnitt

RANVIERsche feuchte Kammer[2]), wird von einem Objektträger gebildet, der mit einer ringförmigen Rinne versehen ist (Fig. 201). Die von der Rinne umgebene Kreisfläche ist so weit abgeschliffen, daß ihr Niveau um 0,5—1 mm unter der Oberfläche des Objektträgers liegt. Die Rinne dient zur Aufnahme von etwas Wasser. Auf die mittlere Kreisfläche wird ein kleiner Flüssigkeitstropfen gebracht und dann das Deckglas aufgelegt, das so groß sein muß, daß es die Rinne vollständig deckt. Die in Beobachtung zu nehmende Flüssigkeitsschicht wird um so größere Tiefe besitzen, je mehr von der inneren Kreisfläche der Kammer abgeschliffen wurde. Das Niveau dieser Kreisfläche kann auch so tief gelegt werden, daß eine Beobachtung in hängendem Tropfen möglich wird. Ist Luftzutritt erwünscht, so erhält der Objektträger einen seitlichen, keilförmigen Einschnitt, der in die ringförmige Rinne führt. Die Luft kann auf diese Weise zu letzterer und somit auch zu dem Kulturtropfen gelangen[3]). Das aufgelegte Deckglas wird im übrigen mit Vaselin oder mit Wachs umrandet. *Nachet*-Paris stellt die RANVIERsche feuchte Kammer auch aus Metall her. Durch eine in der Metallplatte angebrachte Mikrometerschraube läßt sich der Abstand zwischen der inneren Kreisfläche der Kammer und dem Deckglas verändern; auch kann durch zwei in der Metallplatte liegende Röhren Luft zutreten, bzw. Luft oder ein anderes Gas durchgeleitet werden[4]). — Die PRINGSHEIMsche Gaskammer hat einen Boden aus starkem Glas, die Seiten und der Deckel sind aus Metall. Der letztere hat in der Mitte eine kreisrunde Öffnung, die von unten her mit einem Deckglas verschlossen ist; er wird durch drehbare Arme und Schrauben auf der Gaskammer befestigt. Die Fugen verschmiert man außerdem mit Wachs und Vaselin und erreicht so einen luftdichten Verschluß. Der Boden der Kammer, der leicht beschlägt, wird mit einer dünnen Flüssigkeitsschicht bedeckt. Den hängenden Tropfen bringt man am Deckglas an. Man kann die Kammer mit Eis

---

[1]) So liefert *E. Leitz*, Wetzlar, Objektträger mit rundem Ausschliff für 40 M (Katalog 46 D, Nr. 195).

[2]) Sie wird von *Stiassnie*-Paris und *Nachet*-Paris angefertigt.

[3]) Vgl. A. PRAZMOWSKI, Unters. über d. Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterienarten, 1880, S. 10.

[4]) S. a. die feuchte Kammer nach ENGELMANN im Reg. IV.

füllen. Ein besonderer Deckel, an welchem über dem Deckglas ein Platinkreuz mit zentralem Ring sich befindet, wird benutzt, wenn es gilt, die Kammer auch von oben durch Eis zu kühlen. Das Platinkreuz stellt eine schnelle Wärmeleitung zwischen dem Versuchstropfen und dem Eis her. Zwei seitlich an der Kammer angebrachte Röhren sorgen für die Zu- und Ableitung der Gase[1]). — Für bestimmte Zwecke, so für Reinkulturen von Hefe und von Bakterien, kann man sich auch der v. Recklinghausenschen feuchten Kammer und zwar in etwas modifizierter Form[2]) bedienen. Sie stellt eine kleine, kreisrunde Glasdose dar, deren deckglasdicke, flache Wände einander so stark genähert sind, daß sich ein scheibenförmiger Hohlraum im Innern ergibt. Zu diesem führt von zwei entgegengesetzten Stellen der Schmalseiten je ein Glasrohr. Die Kammer wird mit Flüssigkeit angefüllt, diese wieder abgelassen und nun unter entsprechend starker Vergrößerung das zu behandelnde Objekt in der dünnen Flüssigkeitsschicht gesucht, die durch Adhäsion an der oberen Wandung haften blieb. — Als große feuchte Kammern dienen im einfachsten Fall die bisher benutzten Glasglocken, die auf Tellern mit ihrem unteren Rand im Wasser ruhen. Ein passendes Gestell nimmt die kleinen, feuchten Kammern, falls das Objekt nicht kontinuierlich beobachtet werden soll, auf. Als derartige feuchte Kammern sind unter Umständen auch flache Kästen von Zinkblech zu empfehlen[3]) mit einem gutschließenden Deckel von gleichem Metall oder mit einer Glastafel als Decke. Im Innern des Kastens liegt entweder ein entsprechend zugeschnittenes und angefeuchtetes Stück Ziegel, auf das man die Präparate direkt auflegt, oder eine Schicht nassen Sandes oder Gipses, über der die Präparate auf zwei Metallstreifen ruhen. Die Kästen lassen sich für eine beliebige Anzahl von Präparaten einrichten, auch aufeinanderstellen und so in größerer Anzahl gleichzeitig, wenn wünschenswert, in einem Trockenschrank einer gleichmäßigen Temperatur aussetzen. Solche Kästen kann man auch, was vielleicht noch praktischer ist, ganz aus Gips gießen. Sie haben alsdann im Verhältnis zu den Zinkkästen den Vorzug, daß die Feuchtigkeit in ihrem Innern ganz gleichmäßig verteilt ist, und daß sich an der Innenfläche des Deckels keine Wassertropfen sammeln, die auf die Präparate niederfallen könnten[4]).

In vielen Fällen sind bestimmte Entwicklungszustände der Pilze nur in Massenkulturen zu erzielen, so beispielsweise die von uns zuvor betrachteten Zygosporen von Mucor Mucedo. Für solche Massenkulturen, die ebenfalls absolut rein sein müssen, kommt neben Nähragar bzw. -Gelatine (s. S. 473 ff.) in Glasschalen vor allem gewöhnliches, ungesäuertes Brot als Substrat in Betracht. Es wird von der Kruste befreit und in einem Trockenapparat 2 Tage lang einer Temperatur von 120° ausgesetzt. Dann ist es sicher sterilisiert. Das Brot wird in eine sterilisierte, oben plan abgeschliffene Kristallisierschale gelegt und diese mit einer ebenfalls sterilisierten, übergreifenden Glasschale bedeckt. Hierauf läßt man die gewählte Nährlösung in einer mit Kautschukstopfen versehenen Spritzflasche aufkochen und bespritzt das Brot mit einer kochend heißen Lösung, bis es sich vollgesogen hat. Die Glasschale wird nur soweit gelüftet, als es

---

[1]) Vgl. A. Tschirch, Zeitschrift für Instrumentenkunde, Bd. I, 1881, S. 332.

[2]) Abbildung bei O. Brefeld, l. c. 1881, S. 18, Fig. 4. Sie wird u. a. von *Geissler* Nachf.-Bonn auf Wunsch angefertigt.

[3]) Ph. van Tieghem und G. le Monnier, l. c. 1873, S. 263.

[4]) G. Bainier, l. c. 1883, S. 346.

zu dieser Operation notwendig ist. Nach dem Erkalten wird ein kleines, auf einem Objektträger aus einer Spore herangezogenes Myzel mit Hilfe einer flachen Nadel auf das Brot übertragen. Es ist in vielen Fällen geraten, nicht mehr als etwa 3 Sporen zur Aussaat zu verwenden. Will man die Aussaat der Sporen direkt auf dem Brot vornehmen, so überträgt man Tröpfchen des in Wasser verteilten Sporenmaterials mit einer Nadel darauf. — Auch der Mist pflanzenfressender Tiere läßt sich als Substrat für solche Massenkulturen verwenden. Man rührt den Mist mit Wasser zu Brei auf und stellt die Mischung für einen Tag in ein Dampfbad; hierauf gießt man den flüssigen Teil ab und benutzt den festen als Kulturboden. — Für Pilze, deren Massenkultur in flüssigen Medien zu erfolgen hat, wird die Sterilisierung der Nährstofflösungen und die Aussaat in gleicher Weise wie bei den Bakterien vorgenommen (vgl. S. 476). Bei größeren Pilzformen läßt sich reines Aussaatmaterial aus einzelnen Sporangien gewinnen; bei solchen kleineren Formen, die nicht in feuchter Kammer heranzuziehen sind, wird man eine Anzahl von Kulturen in oder auf sterilisierten Medien, die für das Gedeihen der betreffenden Art besonders geeignet sind, anlegen. Sucht man dann jede Aussaat mit möglichst reinem Material auszuführen, so steigt mit der Zahl der Kulturen auch die Wahrscheinlichkeit für völlige Reinheit. Meist wird man schon der dritten bis vierten Kultur das Material für die endgültige Aussaat entnehmen können. — In entsprechender Nährlösung, auch auf entsprechendem festen, sterilisierten Substrat[1]) gelingt es, nicht nur saprophytische, sondern auch gewisse, sonst parasitisch lebende Pilze zur vollen Entwicklung zu bringen. Man verfährt dabei am besten so, daß man die am meisten befallenen Teile der Nährpflanzen schnell trocknet, kalt mit Wasser auszieht, sterilisiert und nach Umständen etwas Bierwürze zusetzt[2]). Manche Sporen keimen aber nicht, weil sie den Tierleib passieren müssen, um keimfähig zu werden; für solche, die im Tierleib selbst zur Entwicklung gelangen, ist auch wohl außerhalb desselben durch Erhöhung der Temperatur auf 36^0 die Keimung zu erwirken. — Aussaaten parasitischer Pilze sind stets auch direkt auf den entsprechenden Wirten (Pflanzen oder Tieren) vorzunehmen; wir werden später Gelegenheit finden, einen solchen Versuch anzustellen.

Durch bestimmte Abänderung der Kulturbedingungen kann es gelingen, einen Pilz zur Bildung der gewünschten Entwicklungsformen oder Fortpflanzungsorgane zu zwingen[3]). Als ein wirksames Mittel, Zygotenbildung zu erlangen, ist in bestimmten Fällen bei genügender Ernährung die Steigerung der Konzentration erkannt worden. Bei den Mucorineen hat sich Kohlenhydrat-haltiges Substrat bei starkem Feuchtigkeitsgehalt der Luft als besonders günstig für die Zygotenbildung erwiesen[4]). Auch die Einschränkung des Luftzutritts, die Erhöhung oder Erniedrigung der Tempe-

[1]) Vgl. auch J. Costantin, Les mucedinées simples, Paris 1888, dann Journ. de Bot., Bd. III, 1889, S. 313, und Rev. gén. de Bot., Bd. III, 1891, S. 497.

[2]) O. Brefeld, Unters. a. d. Gesamtgebiete d. Mykologie, Bd. XIV, 1908, S. 42.

[3]) G. Klebs, Die Bedingungen der Fortpflanzung bei Algen und Pilzen, 1896, S. 446 ff.; ferner Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXII, 1898, S. 1; XXXIII 1899, S. 513; XXXV, 1900, S. 80; schließlich Bot. Ztg., LX. Jahrg., 1902, 2. Abt., Sp. 176; R. Falck, Cohns Beitr. z. Biol. d. Pfl., Bd. VIII, 1901, S. 213; B. Namyskowski, Anz. Akad. Wiss. Krakau, Math.-Nat. Kl., B. 1910, S. 477.

[4]) Vgl. A. F. Blakeslee, Proc. Amer. Acad. of Arts and Sc., Vol. XL, 1904, S. 251, und Science, 1908, No. 703, S. 960.

ratur, sowie eine Änderung der Intensität der Beleuchtung kann unter Umständen die Fruchtform beeinflussen. Eine Verminderung des Luftdruckes auf 6—10 mm hat ein Aussprossen der Sporangienanlagen und sonstige Abweichungen an den Sporangienträgern und Sporen bei Mucor racemosus zur Folge.

Manche Kulturen sind auf toten Tierkörpern vorzunehmen. So gedeihen die zu den Phycomyceten gehörenden, wasserbewohnenden Saprolegnien auf Fliegen und besser noch auf Mehlwürmern (Larven von Tenebris molitor), die man auf der Oberfläche des Wassers schwimmen läßt[1]). Meist entwickelt sich aber an solchen Tierkörpern ein Gemisch verschiedener Saprolegnia-Arten. Wünscht man Kulturen zu erlangen, die nur

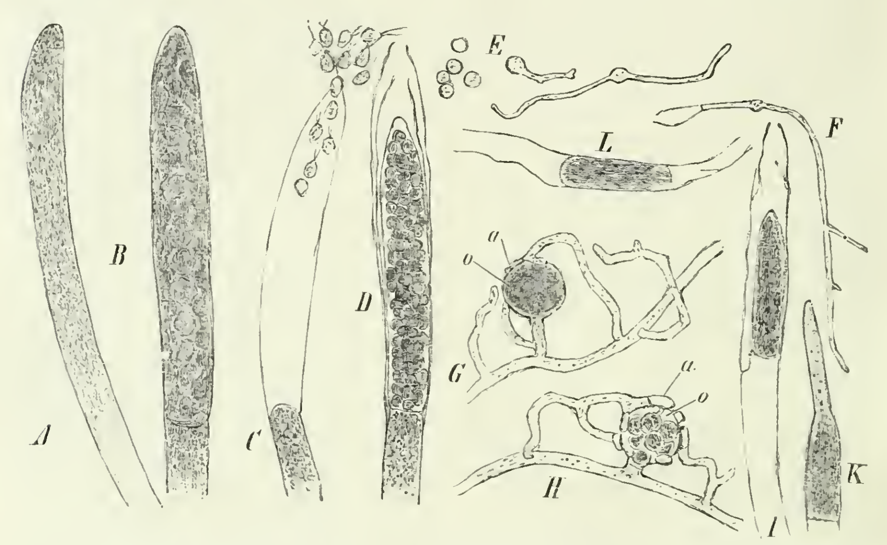


Fig. 202. Saprolegnia monoica. *A—D* Zoosporangiumanlagen und Zoosporangien; *E*, *F* Ruhende und ausgekeimte Zoosporen, *G*, *H* Oogonien und Antheridien im Befruchtungsstadium; *I—L* Gemmen. Nähere Erklärung der Figuren im Text. Vergr. 160.

eine bestimmte Spezies enthalten, so schneidet man am besten mit einem krummen Scherchen den in Wasser mittels Herumschwenkens und vorsichtigen Abbürstens mit einem weichen Pinsel von anhaftenden anderen Mikroorganismen befreiten, fruktifizierenden Hyphenkranz vom Tier ab, bringt ihn in einen Wassertropfen auf den Objektträger und isoliert die einzelnen Hyphen mit Hilfe zweier Präpariernadeln bei schwacher Vergrößerung unter Mikroskop. Die ausgewählten Hyphen überträgt man in eine Kristallisierschale mit filtriertem und abgekochtem Aquariumwasser, das nach dem Erkalten durch kräftiges Schütteln wieder mit Sauerstoff gesättigt wurde. Die als Nährsubstrat dienenden Fliegen sind, um Bakterienentwicklung möglichst einzudämmen, kurz vor ihrer Verwendung durch 10 Sek. langes Eintauchen in kochendes Wasser zu sterilisieren. Vorher schneidet man ihnen, damit eine gleichmäßige Entwicklung des Hyphenkranzes erfolgen kann, die Beine dicht am Körper ab. Die flach ausgebreiteten Flügel drückt man der Wasseroberfläche an, wodurch vor allem ein Untersinken

[1]) W. Rothert. Cohns Beitr. z. Biol. d. Pfl., Bd. V, 1892, S. 294.

des Fliegenkörpers vermieden wird. Im Verlauf von 2—3 Tagen wird man auf diesem Wege meist schon Kulturen erhalten, die nur die gewünschte Spezies aufweisen. Falls die Isolierung noch nicht vollkommen gelungen sein sollte, so wiederholt man das Verfahren. Durch Überimpfen der sich weiterhin entwickelnden Zoosporen können weitere Spezieskulturen angelegt werden[1]).

Meist findet sich unter den so auftretenden Saprolegniaceen die Saprolegnia monoica (Pringsh.) de Bary. Bei nicht zu hoher Wärme des Kulturwassers — man vermeide Temperaturen über 25° — sehen wir die Hyphenkränze an den ins Wasser geworfenen Insektenkörpern nach 3—4 Tagen sich entwickeln. Am 4. oder 5. Tage kann man reichlich Zoosporangienbildung vorfinden, indem sich dichtes Plasma in den ausstrahlenden Hyphenenden sammelt, das sich gegen das Plasma des rückliegenden Hyphenteils abgrenzt und in eine größere Zahl von zweiziligen ungeschlechtlichen Schwärmsporen (Zoosporen) zerfällt, die bei Reife der Sporangien nach Öffnen des Sporangienscheitels nach außen entleert werden (vgl. Fig. 202 *A*, *B*, *C*). Sie schwärmen im umgebenden Wasser umher, setzen sich nach einiger Zeit fest, ziehen ihre beiden endständigen Zilien ein, runden sich kugelig ab und umgeben sich mit einer Membran. Nach einer kurzen Ruhezeit schlüpft aus ihnen wieder je eine Zoospore heraus, die aber bohnenförmige Gestalt aufweist und die beiden Zilien seitlich an der konkaven Fläche eingefügt zeigt. Diese Zoosporen kommen nach einiger Zeit wieder zur Ruhe, werfen die Zilien ab, umgeben sich mit neuer Membran und können bei günstigen Bedingungen bald zum Myzel auskeimen (*E*), das manchmal sehr bald zur Zoosporangienbildung schreitet (*F*, das nach links gerichtete Zoosporangium schon entleert). Nach der Entleerung der ersten Sporangiengeneration wechselt Wachstum und Ausbildung von weiteren Zoosporangien, den jeweiligen Ernährungsbedingungen folgend, miteinander ab. Dabei kann es vorkommen, daß bei den alten, entleerten Sporangien eine Durchwachsung eintritt, wie es aus Fig. 202 *D* ersichtlich ist, wo ein Zoosporangium zum drittenmal am Ende des gleichen Myzelastes vor der Entleerung steht.

Ehe der Nährstoffvorrat im Substrat erschöpft ist — gewöhnlich ist das in Kulturen, die ungestört stehenblieben, wenn keine übermäßige Bakterienentwicklung eintrat, nach 7 oder 8 Tagen der Fall — schreitet der Pilz zur Ausbildung seiner Geschlechtsorgane. Wir sehen an dem verzweigten Myzel das Ende eines kurzen Seitenastes kugelig anschwellen und sich dicht mit Plasma füllen, das sich unterhalb der Anschwellung durch eine Zellwand vom Plasma des zurückliegenden Myzelastteils abtrennt. An das so gebildete Oogonium (Fig. 202 *G*, *o*) legt sich nun das männliche Geschlechtsorgan in Form eines zarten Myzelastes (Fig. 202 *G*, *a*) an, der einfach bleibt oder sich verästelt und Befruchtungsschläuche in das Oogonium sendet, dessen Inhalt unterdes in eine Anzahl Eizellen zerfallen ist (Fig. 202 *H*). Durch Vereinigung der männlichen Kerne mit den Eikernen wird die Befruchtung vollzogen und aus jedem Ei eine derbwandige Oospore gebildet. Hier und da können die Eizellen auch ohne Befruchtung zur Oosporenbildung schreiten. Bei einigen Saprolegniaceen, wie der

[1]) Nach Fr. Müller, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. IL, 1911, S. 429. Dort auch nähere Angaben über chemotaktische Untersuchungsmethoden, die bei diesen Zoosporen in Anwendung kamen. Über Fixierung und Färbung dieser Pilze vgl. Reg. IV Saprolegnien.

hier zur Untersuchung genommenen Saprolegnia monoica, finden sich beide Geschlechtsorgane auf ein und demselben Individuum (vgl. Fig. 202 *G, H*) bei anderen sind sie auf verschiedene Individuen verteilt[1]).

Die Oosporen keimen nach einer mehr oder minder langen Ruhezeit aus und bilden einen Keimschlauch, der je nach der Beschaffenheit des Substrats nach kurzem Wachstum mit einem Zoosporangium abschließen kann, oder, wenn reichliche Nährstoffe zur Verfügung stehen, ein starkverzweigtes, vegetativ wachsendes Myzel bildet. Bei Nährstoffmangel, hoher Temperatur oder ähnlichen ungünstigen Verhältnissen werden vielfach sog. Gemmen gebildet (Fig. 202 *I, K, L*). Sie stellen Hemmungsbildungen dar, bei denen leicht zu erkennen ist, ob sie aus vegetativen Myzelteilen (*L*), aus Sporangien- (*I, K*) oder Oogonien-Anlagen entstanden sind. In Fig. 202 *I* ist ein Fall dargestellt, wo ein Fadenende zum drittenmal eine Zoosporangium-Anlage gebildet hat, die aber weiterhin zur Gemme wurde. Alle diese Fälle haben das Gemeinsame, daß sich an den betreffenden Stellen das Plasma stark verdichtet und gegen die plasmaärmeren benachbarten Myzelteile durch Querwände abgrenzt. Wenn die Außenbedingungen günstiger werden, keimen sie zu neuen Myzelschläuchen aus (vgl. z. B. Fig. 202 *K*)[2]).

Die Kartoffelkrankheit (Krautfäule der Kartoffel) wird durch Phytophthora infestans DE BARY veranlaßt[3]), einen Pilz, der ebenfalls zu den Phycomyceten gehört. Die Keimschläuche dieses Pilzes dringen durch die Membranen der Epidermiszellen des Kartoffelblattes in dessen Interzellularräume ein, verbreiten sich in diesen und bilden, das Gewebe der Nährpflanze zerstörend, braune Flecke von stetig wachsendem Durchmesser am Blatt. Um reichliche Fruktifikation des Pilzes zu erhalten, stellen wir Teile einer erkrankten Kartoffelstaude in einem Wasserglas unter einer Glasglocke auf und lassen sie etwa zwei Tage dort verweilen. Die erkrankten Blätter werden sich jetzt auf beiden Seiten, vornehmlich aber der unteren, mit weißem „Schimmel“ überzogen zeigen, gebildet von den fadenförmigen Sporangienträgern der Phytophthora. Diese Schimmelrasen sind besonders reichlich an den Rändern der braunen Flecke vertreten. Sie lassen sich auch an Alkohol-Material gut untersuchen. An Flächenschnitten durch das Blatt sehen wir die Sporangienträger aus den weit geöffneten Spaltöffnungen hervorragen. Sie erscheinen als zarte, unseptierte, mit feinkörnigem Plasma erfüllte, in ihrem oberen Teil verzweigte Fäden (Fig. 203 *A*). Die Verzweigung ist monopodial; sie erfolgt meist nur zwei- bis dreimal. In trockener Luft drehen sich die Sporangienträger schrumpfend um ihre Achse. Stellenweise trifft man an dem Ende eines Zweiges ein in Entwicklung begriffenes Sporangium; die reifen zitronenförmig gestalteten Sporangien sind aber beim Einlegen des Präparats in Wasser abgefallen. Um die Sporangien an den Sporangienträgern anzutreffen, muß man die Präparate trocken, doch, um sie vor raschem Austrock-

---

[1]) Systematisches über Saprolegnia bei DE BARY, Bot. Zeitg., Jahrg. XLVI, 1888, Sp. 597 ff.

[2]) Über die Bedingungen der Bildung der verschiedenen Fortpflanzungsorgane bei Saprolegnia vgl. G. KLEBS, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXIII, 1899, S. 513 ff.

[3]) Vgl. A. DE BARY, Ann. d. sc. nat., Bot., 4. sér., T. XX, 1863, S. 32, und Beiträge zur Morph. u. Phys. der Pilze, 2. Reihe, 1866, S. 35.

nen zu schützen, unter Deckglas untersuchen. — Zarte, zwischen Holundermark geführte Querschnitte durch kranke Blätter, und zwar an der Grenze der Flecke, lassen das Heraustreten der Sporangienträger durch die Spaltöffnungen noch deutlicher erkennen. Öfters kommen mehrere solcher Hyphen nebeneinander aus derselben Spaltöffnung hervor, oder häufiger noch verzweigt sich die Hyphe beim Austritt und liefert dementsprechend viele Sporangienträger. Wir können auch, was aber größere Schwierigkeiten bereitet, die Hyphen nach dem Innern des Blattgewebes verfolgen und feststellen, daß sie sich hier in den Interzellularräumen halten. Von den Hyphen aus dringen zahlreiche außerordentlich zarte, fadenförmige Saugfortsätze (Haustorien) in die Zellen der Nährpflanze ein. Die Hyphen selbst schmiegen sich zugleich fest den Zellen der Nährpflanze an. Die Chlorophyllkörner der letzteren erfahren zunächst eine Bräunung; schließlich wird der ganze Zellinhalt in einen dunkelbraunen Klumpen verwandelt, und die ganze Zelle fällt zusammen. — Die Sporangien sind zitronenförmig gestaltet (Fig. 203 *B*), mit kurzem Stielchen, etwas zugespitztem Scheitel und feinkörnigem Inhalt versehen; ihre Membran ist sehr zart, am Scheitel ein wenig angeschwollen. Haben sie ihre volle Größe am Zweig des Sporangienträgers erreicht, so wächst dieser unter ihrer Ansatzstelle einseitig weiter und drängt sie zur Seite, so daß sie in eine rechtwinklige Lage zu ihm gelangen. An der Zweigspitze erfolgt alsbald die Anlage eines neuen Sporangiums (vgl. 203 *A*). — Wir säen frische Sporangien in einem Wassertropfen auf dem Deckglas aus und sorgen durch Umrühren des Tropfens dafür, daß die Sporangien größtenteils untergetaucht zu liegen kommen. Das Deckglas wird umgekehrt einer kleinen, feuchten Kammer aufgelegt und der Tropfen hierdurch suspendiert. Die Kultur darf nicht einem zu intensiven Licht ausgesetzt sein. Nach Ablauf einer Stunde etwa, vielleicht auch später, beginnt die Bildung von Schwärmsporen aus dem Inhalt der Sporangien; daher mußten wir auch die betreffenden Gebilde als Sporangien und nicht als Konidien bezeichnen. Diese Sporangien vermögen übrigens auch sich wie Konidien zu

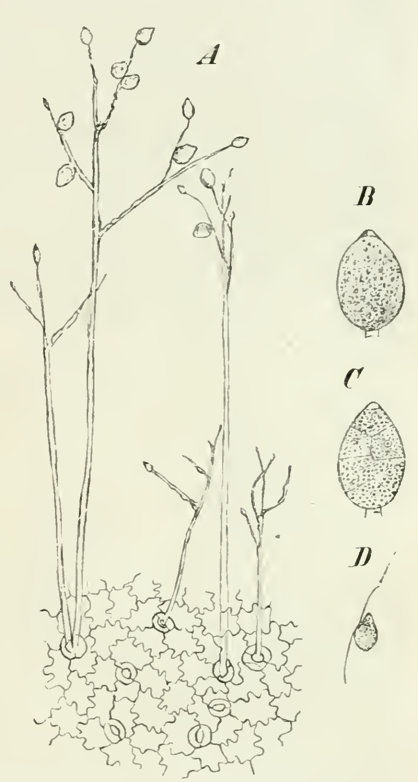


Fig. 203. *A* Oberflächenansicht der Blatt-Epidermis von Solanum tuberosum mit den aus den Spaltöffnungen vortretenden Sporangienträgern der Phytophthora infestans. Vergr. 90. *B* ein reifes Sporangium; *C* ein solches mit geteiltem Inhalt. *D* eine Schwärmspore. *B—D* 540 mal vergrößert.

verhalten, denn wir sehen einige der an der Oberfläche oder dem Rand des Tropfens liegenden direkt einen Keimschlauch aus der vorderen Papille treiben[1]). Bei den untergetauchten, Schwärmsporen bildenden, teilt sich der Inhalt in eine unbestimmte Anzahl von Zellen (*C*), die je eine kleine, zentrale Vakuole erkennen lassen. Der Scheitel des Sporangiums quillt papillenartig vor, löst sich schließlich auf, und aus dem kleinen runden Loch werden die gesonderten Inhaltsmassen nacheinander hervorgepreßt. Sie eilen bald als Schwärmsporen davon. Fixieren wir diese Schwärmsporen mit Jodjodkaliumlösung, so können wir das Vorhandensein von zwei Zilien an ihnen feststellen. Diese sind seitlich in der Nähe der nunmehr nach der Peripherie gerückten Vakuole inseriert (*D*). Die Bewegung der Schwärmsporen dauert bis zu einer halben Stunde. Sie kommen hierauf zur Ruhe, umgeben sich mit einer Membran und treiben alsbald einen Keimschlauch. Der unmittelbar aus dem Sporangium oder aus einer Schwärmspore erzeugte Keimschlauch ist es, der durch die Epidermis in die Stengel und Blätter des Kartoffelkrauts eindringt und nachweisbar eine völlig gesunde Pflanze infizieren kann. Durch die Sporangienbildung ist für die rasche Vermehrung des Parasiten gesorgt.

Als Kultursubstrat für diesen Pilz können neben dem lebenden Kartoffelkraut auch frische Scheiben aus den lebenden Knollen, ferner aus frischen Melonen oder Kürbissen, auch Kürbisdekokte[2]), ferner kalte Auszüge aus schnell getrockneten Kartoffelscheiben in Wasser, die dann filtriert, sterilisiert, vielleicht auch mit etwas Bierwürze versetzt werden[3]), gute Dienste leisten.

Es gelingt bei Phytophthora infestans relativ leicht, das Eindringen des Parasiten in die Nährpflanze zu verfolgen[4]); daher wollen wir diesen Versuch anstellen. Wir säen zu diesem Zweck auf Blättern des Kartoffelkrauts in Wassertropfen Phytophthora-Sporangien aus, und zwar an einer abgeschnittenen Pflanze, die wir in einem dampfgesättigten Raum unterbringen. Bei hinreichend hoher Temperatur (15—20°) werden die Schwärmsporen in etwa 1 Std. entleert und setzen sich auf der Epidermis fest. Unter Umständen erfolgt auch die direkte Keimung einzelner Sporangien mit einem Keimschlauch. Schon nach 3—6 Std. kann man an Flächenschnitten das beginnende Eindringen der Keimlinge feststellen. Sie haben einen kurzen, schmalen Schlauch getrieben, dessen Ende sich gegen die Außenwand der Epidermiszelle wendet und auf ihr sich befestigt. An Präparaten, die 12—24 Std. nach der Aussaat angefertigt werden, kann man alle Stadien der Infektion vorfinden. Der Keimschlauch dringt in die Außenwand der Epidermiszelle ein und durchsetzt sie. Der in das Innere der Epidermiszelle gelangte Teil schwillt bedeutend an und nimmt das ganze Protoplasma des Keimlings in sich auf. An der Außenseite der Epidermis sieht man nur die entleerten Hautteile des Keimlings. Die kleine Öffnung in der Epidermiswand ist fast geschwunden. In einzelnen

---

[1]) Über Keimungsversuche mit solchen Konidien auf künstlichen Nährböden vgl. L. Garbowski, Zentralbl. f. Bakteriol., 2. Abt., Bd. XXXVI, 1913, S. 500.

[2]) L. Matruchot und M. Molliard, Annales Mycologici, Bd. I, 1903, S. 540.

[3]) O. Brefeld, l. c 1908, S. 41.

[4]) A. de Bary, Die gegenwärtig herrschende Kartoffelkrankheit usw., 1861, S. 24, und Ann. d. sc. nat., Bot., 4. sér., T. XX, 1863, S. 43 ff.

Stellen der Präparate sind die Keimschläuche durch die innere Wand der Epidermiszelle bereits in die Interzellularräume gelangt. Seltener tritt der Schlauch zunächst noch in benachbarte Epidermiszellen ein. Man kann gelegentlich auch Keimschläuche beobachten, die durch eine Spaltöffnung in die Nährpflanze eingedrungen sind. — Statt an Flächenschnitten können wir den Vorgang auch an Querschnitten studieren. Am besten ist es, die Aussaat hierzu auf Stengelstücken zu machen, die man auf eine mit Wasser bedeckte Glastafel in dampfgesättigtem Raum legt. Nach 24 Std. hergestellte Querschnitte lassen meist unschwer die eingedrungenen Keime erkennen; früher hergestellte Schnitte zeigen alle Stadien des Eindringens.

Das Eindringen der Keimschläuche von Pilzen in ihre Nährpflanzen wird durch chemischen Reiz, den sog. Chemotropismus, bedingt. Das läßt sich durch bestimmte Versuche erweisen[1]). Am besten nimmt man zu diesem Zweck ein Glimmerplättchen, das man mit einer Nadel fein durchsticht, oder stellt sich aus Kollodium, dem man zuvor etwas Mandelöl zusetzte, ein feines Häutchen her, das man entsprechend durchlöchert. Das durchlöcherte Glimmerplättchen wird auf eine Gelatine gelegt, die man zuvor mit dem bestimmten Reizstoff versetzte, oder auf eine diesen Stoff führende Lösung, die einen Rahmen oder ein Gläschen vollständig füllt. Ähnlich verfährt man mit dem Kollodiumhäutchen. Die Pilzsporen werden auf das Glimmerplättchen oder das Kollodiumhäutchen frei oder in einer dünnen Gelatineschicht ohne Reizstoff ausgesät und entwickeln sich im dampfgesättigten Raum. Der durch die Öffnungen des Plättchens oder des Häutchens diffundierende Stoff beeinflußt die Wachstumsrichtung der Keimschläuche und bestimmt sie, durch die Öffnungen der den Reizstoff enthaltenden Gelatine bzw. Flüssigkeit entgegen zu wachsen. Das geschieht freilich nur bei positivem Chemotropismus, wenn der betreffende Stoff vermöge seiner Natur und nicht zu großer Konzentration den Keimschlauch anzieht, während auch abstoßende, d. h. negativ chemotropische Wirkungen sich geltend machen können. Die Versuche gelingen auch, wenn statt Glimmerplättchen oder Kollodiumhäutchen die abgezogene Oberhaut der Zwiebelblätter (Allium Cepa) verwendet wird. Die Spaltöffnungen bilden dann die natürlichen Öffnungen dieser Membran. Die Glimmerplättchen und Kollodiumhäutchen haben den Vorteil, daß sie sich sterilisieren lassen, eine Vorsichtsmaßregel, die auch auf die zu benutzenden Geräte, auf Gelatine oder Flüssigkeit erstreckt werden muß. Die Keimung hat im Dunkeln zu erfolgen; eine Spur Zuckerlösung auf der Aussaatseite beschleunigt das folgende Wachstum. Die chemotropischen Wirkungen sind meist schon nach 14—24 Std. festzustellen. Wird Mucor stolonifer zu dem Versuch benutzt, so wächst er durch die Öffnungen in die Nährgelatine, wenn diese 2% Rohrzucker enthält; bei 1% Rohrzucker ist die Wirkung erheblich schwächer. Steigert man die Konzentration des Rohrzuckers in der Nährgelatine, so wird die positive chemotropische Wirkung zunächst stärker, dann aber nimmt sie bei 15% Rohrzucker wieder ab, um bei ungefähr 50% in Repulsion, also negativen Chemotropismus überzugehen. Ebenso leicht gelingen die Versuche auch mit Mucor Mucedo, Phycomyces nitens, Penicillium glaucum, Aspergillus niger. Außer Rohrzucker lassen sich für denselben Zweck 2-proz. Fleischextrakt, Pflaumendekokt, Dextrin, Traubenzucker, auch Asparagin verwenden. Von anorganischen Salzen wirkt besonders gut Ammon-

[1]) Manabu Miyoshi, Bot. Ztg., LII. Jahrg., 1894, S. 1.

phosphat. Die Zuckerarten, zumal Rohr- und Traubenzucker, sind für Schimmelpilze vorzügliche, für Saprolegnia nicht ganz so gute Lockmittel. Dextrin zieht in allen Fällen kräftig an. Auch der Fleischextrakt wirkt ausnahmslos anziehend. Freie organische und anorganische Säuren, Alkalien, Alkohol und einige Salze, wie z. B. weinsaures Kalium-Natrium, Kalisalpeter, chlorsaures Kali, Magnesiumsulfat üben hingegen eine abstoßende Wirkung aus.

Werden zu den Versuchen undurchlöcherte Kollodiumhäutchen oder die spaltöffnungsfreie Epidermis der Zwiebelschale von Allium Cepa benutzt und auf Nährgelatine gelegt, so gelingt es dem Keimschlauch von Penicillium sowie Botrytis cinerea, sie zu durchbohren[1]). Die Dicke der Kollodiumhaut darf aber 0,5 mm nicht übersteigen. Ein durch den Pilz erzeugtes Enzym bewirkt die Auflösung der Häute. Um die Pilzhyphen besser verfolgen zu können, empfiehlt es sich, die Versuche auf Deckgläsern anzustellen. Diesen wird eine etwa 1—3 mm dicke Schicht von Nährgelatine aufgetragen, die man mit dem Versuchshäutchen bedeckt, um auf dieses direkt oder in etwas nährstoffarmer Gelatine die Sporen auszusäen. Die Versuchsanstellung auf dem Deckglas ermöglicht es, Beobachtungen auch von der Unterseite her vorzunehmen und die Hyphen, die das Versuchshäutchen durchbrochen haben, in der Nährgelatine zu verfolgen. Ist der Versuch weit genug fortgeschritten, so kann man die Gelatine mit warmem Wasser weglösen und, um die Pilzfäden besser zu verfolgen, eine Färbung mit Kongorot oder Methylviolett vornehmen.

Neuerdings sind für Phytophthora infestans auch Geschlechtsorgane[2]) angegeben worden. Sie sollen sich ähnlich den der nahe verwandten Peronosporeen verhalten. Es werden da im Innern der Nährpflanze kugelige Oogonien angelegt, an die sich je ein kleineres als Antheridium ausgebildetes Myzelzweigende anschmiegt. Das Antheridium treibt einen Befruchtungsschlauch bis an das im Oogonium befindliche zentrale Ei, das sich hierauf mit einer derben Haut umgibt.

An allen Objekten, denen eine Spur von Nahrung abzugewinnen ist, pflegt sich, wenn sie feucht stehen, alsbald der blaugrüne Schimmel, Penicillium crustaceum Fries[3]), einzufinden. Es ist der verbreitetste aller Schimmelpilze. An Material für die Untersuchung wird es uns somit nicht fehlen. Das einfachste dürfte es immerhin sein, ein Brotstückchen zu befeuchten und unter eine Glasglocke zu legen. Es werden auf diesem Brot wohl zunächst Mucorineen sich zeigen; alsbald hat aber das sich langsamer entwickelnde Penicillium sie verdrängt, und nach etwa 8 Tagen überzieht es als dichte blaugrüne Decke das Substrat. Die blaugrüne Färbung rührt von den Konidien des Penicilliums her, die aber nur in großen Mengen diese Färbung verraten. Wir heben nunmehr ein wenig Material von dem Substrat ab, um es zu untersuchen. Es haftet viel Luft zwischen den Myzelfäden, was die Untersuchung erschwert. Sehr einfach läßt sich diese Luft aber beseitigen, wenn wir das Material auf einen Glyzerintropfen legen und dann einen Tropfen Alkohol oder Chloroform darauf fallen lassen. Im nämlichen Augenblick versinkt es in dem

[1]) M. Miyoshi, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXVIII, 1895, S. 269.

[2]) Vgl. G. P. Clinton, Rep. Connecticut Agricult. Exp. Stat., Botan., 1909—10, S. 753 ff., und J. Erikson, Ark. f. Bot., Stockholm, Bd. XIV, No. 20, 1916. Die Angaben bedürfen jedoch noch der Nachprüfung.

[3]) O. Brefeld, Schimmelpilze, Heft II, 1874.

Glyzerintropfen und zeigt sich nunmehr bei der Untersuchung luftfrei. Sein Myzel besteht aus verzweigten Hyphen, die durch Scheidewände geteilt sind. Der unmittelbar sichtbare Inhalt ist feinkörniges Protoplasma mit kleinen Vakuolen. Einzelne Fäden, von anderen Myzelfäden nicht unterschieden, haben sich zu Konidienträgern ausgebildet. An ihrer Spitze setzen sie sich in kurze Äste (Fig. 204 *s'*) fort, die entweder direkt Wirtel flaschenförmiger Sterigmen (*b*, *st*) oder zuvor nochmals je einen Wirtel kürzerer Seitenäste (*s''*) tragen. Diese Verzweigung gibt dem Fruchtträger das Aussehen eines Pinsels. Häufig kommen zu diesem terminalen Pinsel noch seitliche hinzu aus Zweigen, die unterhalb einer Scheidewand aus dem primären Konidienträger entspringen und sekundäre Konidienträger (Fig. 204, rechts) bilden. Die Sterigmen sind an ihrem Ende zu einem feineren Fortsatz (*st*) verlängert. Dieser Fortsatz schwillt an seiner Spitze kugelig an und bildet eine rasch sich vergrößernde Konidie. Unter der ersten Konidie zeigt sich alsbald eine zweite Anschwellung, die zur Konidie wird, und so fort, so daß Konidienketten entstehen. Die obersten Konidien der Kette werden abgeworfen, während neue von unten her nachrücken. — Die in Alk. abs. fixierten Penicillium-Rasen lassen sich sehr gut mit Hämatoxylin färben, wonach festzustellen ist, daß die Glieder des Myzels und der Konidienträger zahlreiche Zellkerne führen[1]). Diese Kerne sind sehr klein; ihre Untersuchung verlangt starke Vergrößerungen. Die Sterigmen sind meist an ihrer Spitze so stark mit Inhalt erfüllt, daß der Nachweis der Kerne dort fast unmöglich wird. In den Konidien läßt sich andererseits bei hinreichend starker Vergrößerung diese Feststellung stets mit Sicherheit vollziehen.

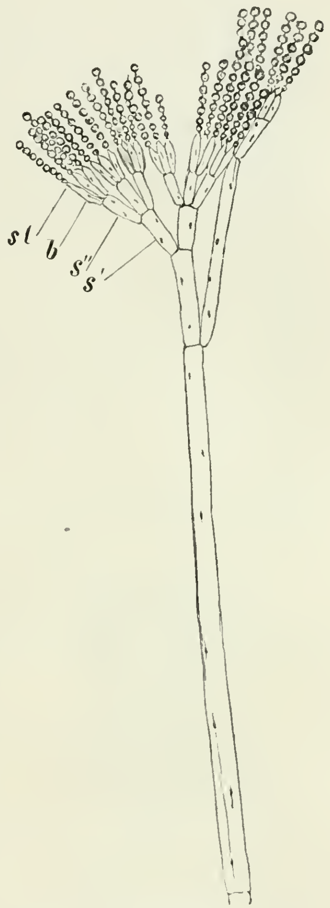


Fig. 204. Penicillium crustaceum. Konidienträger mit Zweigquirlen *s'* und *s''*; *b* Basis, *st* Spitze der Sterigmen; Zellkerne im Konidienträger sichtbar. Nach einem Alkohol - Hämatoxylin-Präparat. Vergr. 540.

Ergänzend sei hinzugefügt, daß es gelungen ist, Penicillium zur Bildung einer zweiten Fruchtform zu veranlassen[2]). Solche Früchte entstehen in entsprechend angelegten Massenkulturen, haben die Form und Größe kleiner Stecknadelköpfe und zeigen gelbliche Färbung. In ihrem Innern werden nach längerer Ruhezeit Asci gebildet, in

[1]) E. STRASBURGER, Zellbildung und Zellteilung, 3. Aufl., 1880, S. 221. Vgl. im übrigen Reg. IV Penicillium, Fixierung und Färbung.

[2]) O. BREFELD, l. c. 1874. S. 39; ferner N. BEZSSONOF, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXVI, 1918, S. 225.

denen je acht Sporen entstehen. Danach stellt sich das Penicillium als ein Ascomycet heraus, und zwar als ein Vertreter der kleistokarpen Ascomyceten mit geschlossenem Fruchtkörper (Plectascineen). Aus den in den Asci erzeugten Sporen sind auf Objektträgern die pinselartigen Konidienträger herangezogen worden.

Nach neueren Forschungen ist Penicillium glaucum oder crustaceum keine einheitliche Art, sondern eine Kollektivspezies[1]). Für die Artunterscheidung läßt sich neben bestimmten physiologischen Merkmalen[2]) besonders die Fähigkeit zur Bildung von Koremien verwerten. Solche Koremien stellen eine Wuchsform mancher Penicillium-Arten dar, die dadurch charakterisiert ist, daß sich aus dem Substrat mehr oder weniger dicke Myzelstränge erheben, die sich an ihren Enden knopfförmig verdicken und zahlreiche grüne Konidien tragen. Sie erinnern in ihrem Habitus an kleine Hutpilze und sind fast immer im Laboratorium zu erhalten, wenn man angefaulte Äpfel in eine feuchte Kammer legt. Selbst unter den ungünstigsten Bedingungen können Koremien entstehen. Ihre Größe ist vom Substrat abhängig. Besonders stark konzentrierte Fruchtsäfte hindern ihre Bildung. Am besten entwickeln sie sich auf Fruchtsäften (von Äpfeln, Birnen, Weintrauben), die man mit gleichen Teilen Wasser verdünnt, oder, wenn man Reinkulturen haben will, auf sterilisierten Apfelscheiben. Stets tritt Koremienbildung bei einer mittleren Temperatur von 20° auf einer Nährlösung ein, die aus 0,2 % KNO_3, 0,1 % $MgSO_4$, 0,02 % K_2HPO_4 und 1 % Glykose besteht[3]).

---

[1]) Vgl. u. a. W. WÄCHTER, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVIII, 1910, S. 521.

[2]) Vgl. W. WOELTJE, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXII, 1914, S. 544.

[3]) Nach M. MUNK, Mykol. Zentralbl., Bd. I, 1912, S. 387. Dort auch Näheres über die Bedingungen der Koremienbildung. Über speziell für Penicillium geeignete Nährböden vgl. die Zusammenstellung bei AL. HAENICKE, Zeitschr. f. Bot., Bd. VIII, 1916, S. 232. S. a. H. J. WATERMANN, Proefschr. Delft 1913.

XXIV. Abschnitt.

Fortpflanzung der Pilze, Flechten und Myxomyceten.

Kernverschmelzungen und Kernteilungen im Ascus der Ascomyceten. Bau, Reinkultur und Sporenbildung der Hefe. Entwicklung und Bau der Myxomyceten.

Untersuchungsmaterial.

Morchella esculenta, frisch, oder in Alkohol, oder aufgeweicht. Hefe, frisch. Eine Amanita-, Psalliota- oder Russula-Art, frisch, oder in Alkohol. Fruktifizierende Anaptychia ciliaris, frisch, oder aufgeweicht.

Didymium (Chondrioderma) difforme. Fuligo varians. Beide frisch. Plasmodiophora Brassicae, fixiert in Chrom-Osmium-Essigsäure.

Wichtigste Reagentien.

Jodjodkaliumlösung.

Um den Bau des Hymeniums einer hochentwickelten Form der Ascomyceten kennenzulernen, wenden wir uns am besten an eine Morchel, Morchella esculenta, weil diese stets zu beschaffen ist, indem sogar getrocknete Exemplare nach dem Aufweichen für die Untersuchung verwendet werden können. Frische Exemplare sind freilich vorzuziehen. Die allbekannte Morchel hat einen unregelmäßig eiförmigen, gestielten Fruchtkörper, der im Innern eine einfache Höhlung birgt und dessen oberer angeschwollener Teil in tiefe Falten gelegt ist. Die einspringenden Felder der Kammern sind mit Hymenialgewebe bekleidet, während dieses an den vorspringenden, exponierten Rippen nicht zur Entwicklung kommt. Sehr leicht sind entsprechende Schnitte zu bekommen, die senkrecht gegen die Oberfläche irgendeiner Kammer geführt sein müssen. Das Hymenium besteht aus annähernd parallel gestellten Sporenschläuchen (Asci) und Saftfäden (Paraphysen) (Fig. 205). Die Schläuche (*a*) sind fast zylindrisch und enthalten in ihrem oberen Teil acht aneinandergedrängte, ellipsoidische, einzellige Sporen (Ascosporen). Außer den Sporen ist Epiplasma in dem Ascus vorhanden, dessen starkes Lichtbrechungsvermögen stellenweise auffällt. Die Paraphysen sind bräunliche, nach oben zu etwas angeschwollene, septierte Fäden. Ihre oberste

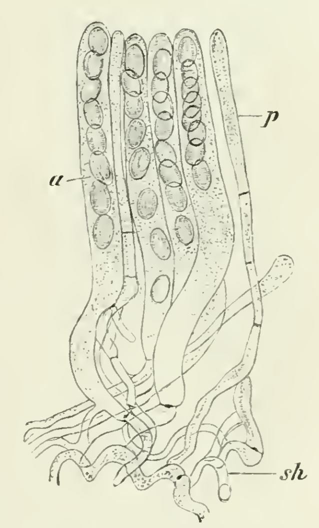


Fig. 205. Teil des Hymeniums von Morchella esculenta. *a* Asci; *p* Paraphyse; *sh* subhymeniales Gewebe. Vergr. 240.

Zelle ist besonders lang. Sie erreichen nicht die Höhe der Asci. Paraphysen und Asci entspringen als Hyphenendigungen dem dicht verflochtenen, flach ausgebreiteten, subhymenialen Gewebe. Dieses ruht auf dem lockerer gebauten, inneren Hyphengeflecht des Fruchtkörpers. Zusatz von Jodjodkaliumlösung färbt die Epiplasmamassen in den Asci rotbraun. Diese Reaktion ist für Epiplasma charakteristisch und wird durch das Vorhandensein von Glykogen in ihm bedingt[1]). Um aus der Intensität der Färbung Schlüsse auf die Menge des vorhandenen Glykogens ziehen zu können, sind die Schnitte gleich in einen Tropfen von Jodjodkaliumlösung von bestimmter Konzentration zu legen. Errèra empfiehlt eine Lösung von Jod 0,1 g, Jodkalium 0,3 g, Aq. dest. 45 ccm. Die charakteristischen Eigenheiten dieser Reaktion zeigen sich beim Erwärmen. Zu dem im Wasser liegenden, durch Zusatz von Jodjodkalium gefärbten Präparat wird etwas Wasser hinzugefügt, doch nicht soviel, daß Entfärbung eintreten kann; dann wird vorsichtig bis auf etwa 60° erwärmt und über weißem Papier verglichen, ob die Färbung blasser geworden. Ist dies geschehen, so wird das Präparat rasch abgekühlt, und es tritt die bei größeren Präparaten schon dem bloßen Auge sichtbare, dunklere Färbung wieder ein[2]). — Außer dem in der Verwandtschaft der Kohlenhydrate stehenden Glykogen sind verschiedene Kohlenhydrate, ferner fettes Öl und andere, als metachromatische Körperchen zusammengefaßte Stoffe, darunter Volutin, in den Pilzen nachgewiesen worden[3]). — Mit Hilfe der Jodjodkaliumfärbung läßt sich die Basis mancher Asci ziemlich tief in das Subhymenialgewebe verfolgen. Der Inhalt der Sporen, der Paraphysen, des Subhymenialgewebes und der Gewebe im Innern des Fruchtkörpers färbt sich gleichzeitig gelb bis gelbbraun.

An Alkohol-Präparaten der Morchel gelingt es mit Hämatoxylin unschwer, die Kerne in allen Teilen des Fruchtkörpers nachzuweisen. Zahlreiche kleine Kerne sind in den Zellen der Hyphen und der Paraphysen, ein einziger, relativ großer Ascus vor der Sporenbildung vorhanden. Er geht nachweislich aus der definitiven Verschmelzung von zwei Kernen hervor, die einem für eine Anzahl von Ascomyceten genau studierten Befruchtungsvorgang entstammen[4]). Durch fortgesetzte Teilung erzeugt er hierauf acht Kerne. Um diese werden entsprechende Zytoplasmapartien abgegrenzt und so die acht Sporen erzeugt.

Die Vorgänge der Kernteilung, sowie die darauf folgende Abgrenzung der Zytoplasmapartien, die einen nicht eben häufigen Fall von freier Zellbildung darstellt, ist am besten an Objekten zu studieren, die in der S. 64 angegebenen Weise mit schwacher, noch zur Hälfte verd. Chrom-

[1]) L. Errera, L'épiplasme des Ascomycètes, 1882; dort auch die Literatur zum Epiplasma; außerdem: Mém. de l'Acad. Roy. de Belg., T. XXXVII, 1885. Vgl. die zusammenfassende Darstellung bei A. Meyer, Morphol. u. physiol. Analyse der Zelle. Jena 1920. S. 261 ff.

[2]) L. Errera, l. c. 1882, S. 45.

[3]) E. Bourquelot, Bull. de la soc. Mycol. de France, 1890; A. Guilliermond, Rev. gén. de Bot., Bd. XVI, 1903, S. 50; ferner Bull. Inst. Pasteur, Bd. IV, Febr. u. März 1906. Dann A. Meyer, Bot. Ztg., LXII. Jahrg., 1904, S. 128; ferner Derselbe, l. c. 1920, S. 186.

[4]) Über den Befruchtungsvorgang bei den Pilzen vgl. u. a. A. Guilliermond, Progressus rei bot., Bd. IV, 1913, S. 430 ff.; W. Nienburg, Naturwiss. Wochenschr., N. F., Bd. XIV, 1915, S. 33 ff.; H. Sierp, Die Naturwissenschaften, Bd. III, 1915, S. 82 ff.; A. Lendner, Bull. soc. myc. Genève, No. 4, 1917.

Osmium-Essigsäure fixiert und an Mikrotomschnitten (S. 45,76) mit Safranin-Gentianaviolett-Orange (S. 83) gefärbt werden[1]). Das Orange kann bei der Färbung von Kernteilungsbildern der Pilze unter Umständen vorteilhaft durch Lichtgrün F. S. ersetzt werden[2]). — In Schnitten, die mit freier Hand ausgeführt und mit Hämatoxylin gefärbt wurden, ist unschwer an allen Querwänden das Vorhandensein der früher von uns bei Hymenomyceten (S. 388) studierten, hier entsprechend gebauten Tüpfel nachzuweisen.

Den soeben behandelten Ascomyceten werden meistens die Hefepilze oder Saccharomyceten angeschlossen. Sie sind selbständige Pilze, wenigstens ist bis jetzt der Nachweis nicht geführt, daß sie in den Entwicklungsgang anderer Fadenpilze gehören, wenn auch bei verschiedenen Gattungen der Mucorineen, Exoasceen und Ustilagineen ebensolche Sprossungserscheinungen, wie bei der Hefe, zu beobachten sind. Wahrscheinlich stellen sie reduzierte Ascomyceten vor.



Fig. 206. Saccharomyces cerevisiae. *1* nicht sprossende, *2* u. *3* sprossende Zellen. Vergr. 540.

Wir verschaffen uns Bierhefe, am besten gärende Maische aus der Bierbrauerei, und untersuchen sie in Wasser bei starker Vergrößerung. Wir finden das Gesichtsfeld erfüllt von kleinen Zellen, die Individuen des Bierhefepilzes, Saccharomyces cerevisiae, bzw. einer zu diesem Pilz gehörenden Bierheferasse sind. Die Zellen erscheinen kugelrund bis ellipsoidisch; sie besitzen eine zarte Membran und lassen in ihrem Innern eine große oder mehrere kleine Vakuolen und einige stärker das Licht brechende Körnchen bzw. Tröpfchen (Fig. 206, *1*) erkennen[3]). Kerne lassen sich durch bestimmte Färbemittel (s. S. 524) sowohl in den lebenden, wie den durch Fixierung abgetöteten Zellen, wenn auch nicht immer, nachweisen. Zahlreiche Zellen sind in Vermehrung begriffen. Diese erfolgt bei dem uns vorliegenden Untersuchungsmaterial durch sog. Sprossung, indem an den Zellen eine, seltener mehrere, kleine, knopfförmige Anschwellungen sich bilden, die allmählich die Gestalt und Größe der Mutterzelle erreichen und dann von dieser durch eine Scheidewand abgegrenzt werden (*2*, *3*). Bei sehr energischer Entwicklung sehen wir die Tochterzellen zu kleinen, stellenweise verzweigten Ketten vereinigt; bei langsamer Entwicklung findet eine Trennung der Zellen vor jeder neuen Sprossung statt. Wegen dieser Vermehrung durch Sprossung sind die Saccharomyceten auch als „Sproßpilze“ bezeichnet worden. Doch kennt man auch hierhergehörende, als „Schizosaccharomyceten“ bezeichnete Organismen, die sich durch Querteilung vermehren. In zuckerhaltigen Flüssigkeiten veranlaßt die Hefe alkoholische Gärung. Bei erschöpftem Substrat tritt Sporenbildung in den Hefezellen ein[4]).

Die Hefezellen lassen unter bestimmten Verhältnissen schon im lebenden Zustand einen Einblick in ihren inneren Bau zu. So läßt sich u. a. der

---

[1]) R. A. Harper, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXX, 1897, S. 249. R. Maire, Ann. Mycol., Bd. III, 1905, S. 123. Ferner u. a. P. Claussen, Zeitschr. f. Bot., Bd. IV, 1912, S. 1; s. a. den Bericht von A. Guilliermond, l. c. 1913, S. 389 ff.

[2]) H. O. Juel, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXII, 1897, S. 366, 367.

[3]) S. d. Einzelheiten u. a. bei W. Henneberg, Wochenschr. f. Brauerei, 1912, No. 24—25. S. a. Derselbe, Zentralbl. f. Bakteriol. usw., 2. Abt., Bd. XLV, 1916, S. 50.

[4]) S. die näheren Literaturangaben in F. Lafar, Handb. d. techn. Mykologie. Bd. IV, 1905—1907, und F. Kohl, Die Hefepilze, 1908.

Kern in den lebenden Hefezellen gut beobachten, wenn man als Untersuchungsmaterial solche Hefe nimmt, die möglichst arm an Reservestoffen und anderen Einschlüssen ist (Magerhefe), also etwa 14 Tage alte untergärige Bierhefe, die 1—2 Tage bei 25—35° unter viel Wasser gelegen hat. Auf diese läßt man sehr verdünnte Lösungen von Gentianaviolett oder Methylenblau oder Methylviolett einwirken, wobei sich der Kern intensiv färbt[1]). Um Hefezellen noch eingehender studieren zu können, muß man sie entsprechend härten und färben. Von den verschiedenen Mitteln, die hierfür empfohlen werden[2]), hat das Möllersche[3]) Verfahren die meiste Anwendung gefunden. Man stellt dabei eine Jodjodkaliumlösung aus 1 g Jodkalium in 100 ccm Aq. dest. her und fügt Jod bis zur Sättigung hinzu. Einige Tropfen dieser Lösung werden auf einen Objektträger gebracht, mit einer Platinöse eine kleine Menge der zu untersuchenden Hefe eingetragen und gleichmäßig verteilt. Hiervon schöpft man nunmehr mit der Platinöse und breitet die geschöpfte Masse so gleichmäßig wie möglich auf einem Deckglas aus. Damit das gelinge, muß das Deckglas sehr rein, vor allem völlig entfettet sein (s. Reg. IV Deckglas-Reinigung). So bereitet man sich etwa ein Dutzend Deckgläser vor. Mit der zuvor hergestellten Jodjodkaliumlösung wird jetzt eine Glasdose gefüllt. In dem Augenblick, wo die auf den Deckgläsern befindliche Flüssigkeit an der Luft verdunstet ist, legt man die Deckgläser in die Glasdose, die mit einem Deckel verschlossen wird. Dort haben die Deckgläser in der Jodjodkaliumlösung mindestens 24 Std. zu verweilen. Dann spült man sie in Wasser ab und läßt sie 30-proz., 80-proz. und endlich 95-proz. Alkohol passieren. Die gelbe Jodfärbung muß dabei schwinden. Die Objekte bleiben in dem 95-proz. Alkohol mindestens 2 Tage. Hierauf schreitet man zur Färbung. Diese läßt sich gut mit einem Gemisch erreichen, das aus 4 g Fuchsin, 10 ccm Phenol, 40 ccm Alkohol und 200 ccm Aq. dest. besteht. Diese Lösung erwärmt man in einem Uhrglas und taucht nun die Deckgläser ein. Die Überfärbung beseitigt man durch Wasser, das einige Prozente Schwefelsäure enthält. Schöne Präparate erhält man durch Nachbehandlung mit Löfflerscher Methylenblaulösung. Auch mit Heidenhainschem Eisen-Hämatoxylin sind gute Färbungen zu erlangen. Man bringt zu diesem Zweck die Deckgläser aus dem Alkohol für etwa 4 Std. in eine 2,5-proz. Lösung von schwefelsaurem Eisenoxydammoniak, färbt dann 12—18 Std. in Hämatoxylin (0,5 g Hämatoxylin, 100 ccm Wasser) und wäscht mit Wasser gründlich aus. Hierauf werden die Präparate unter dem Mikroskop mit der 2,5-proz. Lösung von schwefelsaurem Eisenoxydammoniak so lange behandelt, bis der gewünschte Grad der Differenzierung eingetreten ist. Diese Differenzierung vollzieht sich sehr rasch, verlangt somit sehr sorgfältige Überwachung. Die Untersuchung kann hierauf in verd. Glyzerin (1 T. Glyzerin, 1 T. Wasser) vorgenommen werden, doch halten sich diese Präparate nicht. Schon nach wenigen Tagen pflegen sie entfärbt zu sein. Die Färbung hält sich länger in konz. Kaliazetatlösung oder in Zuckerlösung (Sirupus simplex der Apotheken), der man, um sie vor Schimmel-

[1]) Vgl. W. Henneberg, l. c. 1912; ferner Derselbe, Zentralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenkunde, 2. Abt., Bd. XLIV, 1916, S. 10 ff.

[2]) Eine kritische Zusammenstellung darüber bei H. Zikes, Zentralbl. f. Bakteriol. usw., 2. Abt., Bd. XXXI, 1912, S. 507 ff.

[3]) H. Möller, Zentralbl. f. Bakteriol., usw., 2. Abt., Bd. XII, 1892, S. 540, und Bd. XIV, 1893, S. 359, sowie Fr. A. Janssens u. A. Leblanc in der Revue „La Cellule“, T. XIV, 1898, S. 206.

pilzen zu schützen, etwas Jodoform zusetzt. — Von anderer Seite[1]) ist auch zur Fixierung der Hefe eine gesätt. wässr. Sublimatlösung empfohlen worden. Diese Lösung muß mindestens 12 Std. einwirken. Dann wäscht man in Wasser aus, ersetzt dieses durch 30-proz. und durch 70-proz. Alkohol, und hierauf letzteren durch Methyl-Alkohol. Einige Tropfen dieses die Hefezellen führenden Methyl-Alkohols bringt man auf ein Deckglas, läßt zum größten Teil verdunsten und fügt hierauf einige Tropfen Wasser hinzu. Nachdem die Hefezellen sich mit Wasser sättigten, entfernt man dieses und läßt die Hefe ganz trocken werden. Dann legt man das Deckglas wieder für einige Std. in Wasser ein und färbt mit Fuchsin-Methylgrün oder Methylgrün-Eosin, oder auch Hämatoxylin. Ferner wurde eine Fixierung mit Pikrin-Osmium-Platinchlorid-Essigsäure (II. vom Rathsches Gemisch, s. Reg. IV) empfohlen[2]), mit darauffolgender Färbung durch Heidenhainsches Eisen-Hämatoxylin. Nach Auswaschen der Fixierungsflüssigkeit wird der aufgeschwemmte Hefebrei in dünner Schicht auf Deckgläschen gestrichen und auf diesen eingetrocknet. Dann läßt man die Deckgläschen in einer Glasschale 6—24 Std. auf einer 2,5-proz. Eisenalaunlösung schwimmen. Nach einmaligem Abspülen in Wasser trägt man sie in 0,5-proz. wässr. Hämatoxylinlösung ein. Die nach 24-stündiger Einwirkung tiefschwarz gefärbten Hefezellen werden unter mikroskopischer Kontrolle mit einer $^1/_4$-proz. Eisenalaunlösung differenziert, bis ein genügender Kontrast erzielt ist. Die Untersuchung wird in unverd. Glyzerin vorgenommen, wo sich die Färbung auch hält. — Schließlich gab Fixierung mit konz. wässr. Pikrinsäurelösung und nachfolgende Färbung mit Methylenblau und Hämatoxylin oder besser noch Pikroformol und Eisen-Hämatoxylin-Färbung bei der Differenzierung des Zellkerns gute Resultate[3]).

Die Reinkultur der Hefe hat eine sehr große, technische Bedeutung gewonnen. Bei Bier- wie Weinbereitung arbeitet man jetzt meist mit reiner Hefe. Die Methoden der Reinkultur sind für Hefe im wesentlichen die nämlichen wie für Bakterien. Bewährt hat sich als fester, durchsichtiger Nährboden für die Kultur eine Nährgelatine, die durch Lösen von 5—6 T. Gelatine in gehopfter Bierwürze hergestellt wird[4]). Man beschickt ein Deckglas mit der infizierten Nährgelatine, kehrt es um, bedeckt damit eine feuchte Kammer und stellt durch direkte mikroskopische Beobachtung fest, ob die in dem Nährboden sich entwickelnden Kolonien wirklich von einer einzigen Zelle abstammen. Aus dem Habitus der Flecke ist bei der Hefe, im Gegensatz zu den Bakterien, kein Schluß auf die Natur der Hefe zu ziehen, da verschiedene Spezies dasselbe Aussehen, verschiedene Kolonien derselben Spezies ein verschiedenes Aussehen zeigen können. Den unter dem Mikroskop kontrollierten Kulturen werden mit geglühter Platinöse, bzw. Öse aus Chromnickeldraht, die Hefezellen entnommen, mit denen dann Kolben mit sterilisierter Würze oder anderer geeigneter Nährstofflösung infiziert werden. Als passende Nährstofflösung erwies sich 10-proz.

[1]) H. Wager, Ann. of Bot., Bd. XII, 1898, S. 508 ff. S. a. Derselbe und A. Peniston, Ebenda, Bd. XXIV, 1910, S. 51—55.

[2]) C. Hoffmeister, Sitzber. d. Deutsch. nat.-med. Vereins f. Böhmen „Lotos", 1900, Nr. 5.

[3]) A. Guilliermond, Recherches cytologiques sur les levures, Lyon, 1902; ferner Derselbe, Rev. gén. de Bot., Bd. XV, 1903, S. 49, u. Bd. XVI, 1903/4, S. 3; ferner Ann. Mycolog., Bd. II, 1904, S. 184.

[4]) E. Chr. Hansen, besonders in Meddelelser fra Carlsberg Labor., Bd. II, 1886; Bd. III, 1891 u. 1892; Bd. V, 1902.

Rohrzuckerlösung mit Zusatz von 0,05 % Weinsäure. Für den Bedarf der Brauereien werden Hefe-Arten bzw. Hefe-Rassen, die sich bewährt haben, in sterilisierter Würze gezogen[1]). Die frühere Hefe bestand aus einem Gemisch verschiedener, z. T. nützlicher, z. T. auch schädlicher Arten und Rassen. Haltbare Bierwürze kann man sich zu fernerem Bedarf herstellen, indem man frische Bierwürze durch etwa vierstündiges Kochen bis zur Sirupdicke konzentriert. Für jedesmaligen Gebrauch wird diese Würze mit sterilisiertem Wasser entsprechend verdünnt. Sie bildet nicht nur für Hefe, sondern auch für zahlreiche Pilze ein sehr geeignetes Nährmedium. — Für die Weingärung legt man Reinkulturen von Saccharomyces ellipsoideus in gutem Weinmost an und verbessert so die Produkte der Gärung. Als Kulturmedium empfiehlt sich die Verwendung von einheimischem, filtriertem Weinmost oder von konz. Weinmost[2]), der wie die konz. Bierwürze sich herstellen läßt und auch käuflich zu haben ist. Aus weißen Trauben gewonnener Most verdient den Vorzug. Auch dieser konz. Weinmost nimmt, wie die kondensierte Bierwürze, keine Pilzvegetation an und gerät nicht in Gärung. Er liefert eine sehr geeignete Nährlösung, wenn er mit dem vierfachen Volumen Wasser verdünnt und mit etwas weinsaurem Ammoniak versetzt wird. Er eignet sich auch sehr zur Herstellung von Nährgelatine und Nähragar, auf denen nicht allein die Weinhefe, sondern auch zahlreiche Schimmelpilze gut gedeihen. Daß alle diese Kulturmedien sorgfältig sterilisiert werden müssen, ist selbstverständlich. — Die Saccharomyceten überwintern im Boden. Durch entsprechende Kultur sind sie zur S p o r e n b i l d u n g zu bewegen. Dann treten in jeder Zelle eine Anzahl, meist 3—4 runder Sporen auf. Die Kultur gelingt leicht auf sterilisierten Gipsblöckchen, die man stellenweise vertieft, um geringe Mengen der nur einen Tag alten, in sterilem Most erzogenen Hefe aufzunehmen. Das Gipsblöckchen, das am besten aus einem guten Maurergips hergestellt sein soll, da Blöckchen aus reinem Gips beim Befeuchten auseinanderfallen, taucht bis zur halben Höhe in Wasser. Die Schale mit dem Gipsblöckchen wird bei Einhaltung aller Vorsichtsmaßregeln, welche Reinkulturen verlangen, unter eine größere Glasglocke gestellt, die mit ihren Rändern in Sublimatlösung taucht. Die Temperatur ist auf 25° zu halten. Nach 8 Tagen dürfte wohl Sporenbildung erfolgt sein. Dieser Vorgang wird durch Kernteilungsvorgänge eingeleitet, die schließlich zur Bildung von 4 Sporenkernen führen[3]). Schneller kann man Hefenpilze zur Sporenbildung veranlassen, wenn man junge Hefereinkulturen auf schrägerstarrtes Nähragar aussät und in einen Thermostaten bei 28° bringt. Nach 3—4 Tagen zeigen sich da schon Sporen, während bei Zimmer-

[1]) A. JÖRGENSEN, Die Mikroorganismen d. Gärungsindustrie, 5. Aufl., Berlin 1909.

[2]) J. WORTMANN, Ber. d. Kgl. Lehranstalt für Obst- und Gartenbau zu Geisenheim, 1893/94, S. 58 ff., und Bot. Ztg., LI. Jahrg., 1893, S. 177. Ferner R. MEISSNER, Anleitg. z. mikrosk. Untersuchg. u. Reinzüchtg. d. häufigsten im Most u. Wein vorkommenden Pilze, Stuttgart 1901.

[3]) H. SCHIÖNNING, Meddelelser fra Carlsberg Labor., Bd. IV, Heft 1, 1895; FR. A. JANSSENS und A. LEBLANC, l. c. 1898, S. 230; A. GUILLIERMOND, Compt. rend. Acad. Paris, Bd. CXXXIII, 1901, S. 242 u. 1252; Ann. mycol., Bd. II, 1904, S. 184; B. F. BARKER, Philos. Transact. London, Bd. XCIV, 1901, S. 497, u. Journ. of the Fed. Inst. of Brewing, Bd. VIII, 1902, S. 26. H. WAGER, l. c. 1898, S. 499; ferner Derselbe und A. PENISTON, Ebenda, Bd. XXIV, 1910, S. 5. Vgl. im übrigen die Zusammenstellung in F. LAFAR, l. c. 1905—7, S. 61 ff., und die Angaben von H. WILL, Zentralbl. f. Bakteriol usw., 2. Abt., Bd. LIV, 1921, S. 471, in denen genauere Anweisungen zur Kultur der Hefe auf Gipsblöckchen zwecks Sporenbildung zu finden sind.

temperatur die Sporenbildung viel langsamer vor sich geht. Das dabei verwendete Nähragar muß folgende Zusammensetzung haben: 100 ccm Leitungswasser, 1% Agar, 1% Pepton, 1% Fleischextrakt, $^1/_2$% Chlornatrium und nur $^1/_4$% Glykose[1]).

Um uns mit dem Bau des Hymeniums der Hymenomyceten bekannt zu machen, benutzen wir am besten eine der zahlreichen Arten von Amanita (Wulstling), von Psalliota (Egerling, Champignon) oder von Russula (Täubling). Wir wählen hier zur Beschreibung eine Russula, weil sie auch Zystiden besitzt. — Der Hut zeigt an der Unterseite radial angeordnete Lamellen. Diese tragen das Hymenium. Wir schneiden parallel zu dem Verlauf der Lamellen ein schmales Stück aus dem Hut heraus und machen durch dieses möglichst senkrecht zu dem Verlauf der Lamellen Querschnitte, die dünn sein müssen. Der ganze Querschnitt sieht wie ein Kamm aus, an dem die durchschnittenen Lamellen die Zähne darstellen würden. Bei schwacher Vergrößerung erkennen wir, daß die Hyphen aus der Hutscheibe in die Lamelle treten, geradlinig in deren Mediane fortlaufen und, sich fort und fort verästelnd, Zweige abgeben, die sich schräg gegen die Flanken der Lamellen richten und weiter verzweigen. Ein Teil dieser Zweige schwillt keulenförmig an und endigt blind; ein größerer Teil bleibt schlank und bildet am Grund der keulenförmig angeschwollenen Zweige eine dichte Gewebeschicht aus kurzen, rundlichen Gliedern, die als subhymeniale Schicht unterschieden wird. Diese setzt mehr oder weniger scharf gegen die innere Gewebemasse der Lamelle, die „Trama" ab. Die keulenförmig angeschwollenen Zweige der Trama dienen wohl dazu, den Lamellen die nötige Steifheit zu verschaffen. Dem subhymenialen Gewebe entspringen die Basidien und Paraphysen (Fig. 207). Sie zeigen annähernd parallelen Verlauf, sind den Flanken der Lamellen senkrecht aufgesetzt und bilden das Hymenium. Die Basidien (*b*) haben keulenförmige Gestalt. An ihrem abgeflachten Scheitel bilden sie vier gleichmäßig verteilte, dünne Ästchen, die Sterigmen (*s*). Diese schwellen an ihrem Ende allmählich zu je einer ellipsoidischen Spore, Basidiospore (*sp*), an. Die Basidiosporen bleiben auch, nachdem sie die volle Größe erreicht haben, in den meisten Fällen glatt, oder sie erhalten bei manchen Russula-Arten (vgl. Fig. 207) kurze Stacheln auf ihrer Oberfläche.

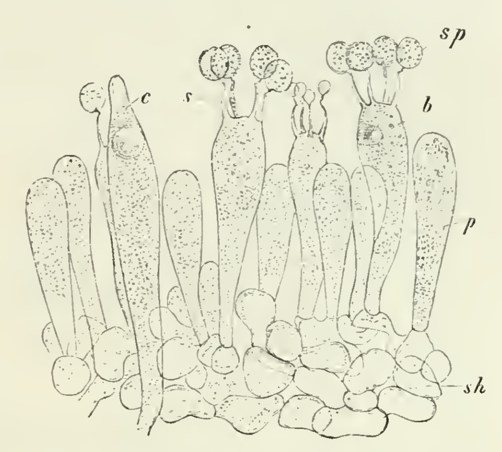


Fig. 207. Teil des Hymeniums von Russula rubra. *sh* subhymeniale Schicht; *b* Basidien; *s* Sterigmen; *sp* Sporen; *p* Paraphysen; *c* eine Zystide. Vergr. 540.

[1]) A. GORODKOWA, Bull. jard. imp. bot. St. Pétersbourg, Bd. VIII, 1908, S. 165. S. a. H. MARCHAND, Rev. gén. de Bot., Bd. XXV, 1913, S. 213.

Hierauf werden sie durch eine Scheidewand vom Sterigma abgetrennt und fallen schließlich ab. Die Abgrenzung und Lostrennung erfolgt ein kurzes Stück unterhalb der Sporenanschwellung, an der Stelle, wo das Sterigma eine leichte Knickung zeigt. Die abgeworfene Spore ist demnach mit einem kurzen Stielchen versehen. — Zwischen den Basidien stehen die niedrigen, sterilen Paraphysen (*p*). — Soweit stimmen mit dem beschriebenen Täubling auch die Wulstlinge und Egerlinge (Champignons) überein. Bei dem Täubling kommen nun aber noch zwischen Basidien und Paraphysen vereinzelte „Zystiden" (*c*) hinzu, Gebilde von der Stärke der Basidien, die mit ihrem zugespitzten Ende ein wenig über die Hymenialfläche hinausragen, mit ihrer verschmälerten Basis das subhymeniale Gewebe durchsetzen und sich als direkte Zweige der medianen Elemente der Trama darstellen. Sie begünstigen anscheinend dadurch, daß sie die benachbarten Hymeniumteile auseinanderhalten, den Sporenfall und dienen wohl auch als Organe zur Ausscheidung von Wasser bzw. gelösten Stoffwechselprodukten[1]). Alle die genannten Elemente sind an ihrer Basis durch Scheidewände abgegrenzt; sie führen feinkörniges Plasma und nicht selten vereinzelte Öltropfen (vgl. Fig. 207 in *b* u. *c*).

Auch in der Basidie[2]) verschmelzen zunächst zwei Kerne zu einem einzigen, der sich hierauf in zwei Tochterkerne teilt, die ihrerseits vier Enkelkerne erzeugen. Dann erst sprossen aus der Basidie die vier Sterigmen hervor und schwellen an ihren Enden zu je einer Spore an. In diese wandert je ein Kern ein, der sich fadenförmig strecken muß, um das dünne Sterigma zu passieren. Bei einigen höheren Basidiomyceten teilt jeder dieser Kerne in der Spore sich nochmals, so daß aus dem Fusionskern, ebenso wie im Ascus, schließlich 8 Tochterkerne hervorgehen. Die Zellen der aus den keimenden Sporen hervorgehenden Myzelien weisen dann meist ebenfalls je zwei Kerne auf (vgl. XIX. Abschn.). Diese Zweikernigkeit der Zellen des Hymenomyceten-Myzels wird in anderen Fällen auf kompliziertere Weise erreicht. Sie ist mit der Ausbildung von sog. „Myzelschnallen" verknüpft, d. h. von seitlich an den Hyphen entstehenden kurzen, nach unten gerichteten Ausstülpungen, wobei sich eigenartige Kernteilungs-, Zellteilungs- und Fusions-Vorgänge abspielen[3]). In den Paraphysen unterbleibt die Kernverschmelzung, die beiden Kerne fallen allmählich der Degeneration anheim. Alle diese Vorgänge lassen sich nur an fixierten und gefärbten Objekten und zwar an Mikrotomschnitten (S. 45, 77) studieren, wobei sich die Fixierung mit dem schwächeren Chrom-Osmium-Essigsäuregemisch (S. 64) oder Chromsäure-Platinchloridgemisch (S. 65) und die Färbung mit Safranin-Gentianaviolett-Orange (S. 83) vornehmlich bewährten. Bei der Einbettung dieser Objekte ist besonders Vorsicht zu üben, damit keine Schrumpfungen erfolgen. Die Objekte haben zunächst eingedicktes Zedernholzöl zu passieren. Sie gelangen mit diesem hierauf in ein Grübchen, das man in Paraffin von 45° Schmelzpunkt machte, und das nun er-

---

[1]) Vgl. F. Knoll, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. L, 1912, S. 453 ff.

[2]) Vgl. die bei den Kernen der Hymenomyceten (S. 390, 391) zitierten Arbeiten, außerdem W. Ruhland, Bot. Ztg., LIX. Jahrg., 1901, 1. Abt., S. 187; ferner E. Dittschlag, Zentralbl. f. Bakteriol. usw., 2. Abt., Bd. XXVIII, 1910, S. 473 ff. Dort auch die hierher gehörige Literatur von Blackman, Christman, Kurssanow, Olive u. a. Ferner H. Kniep, Zeitschr. f. Bot., 1913—1917, u. Flora, Bd. CXI, CXII, 1918, S. 380 ff.

[3]) Vgl. vor allem H. Kniep, l. c. 1913—1918.

wärmt wird. Nach etwa 2 Std. kommen sie in reines Paraffin von 45°, um dort 1 Std. zu verweilen und hierauf noch $1\,^1/_2$—2 Std. in Paraffin von 56° Schmelzpunkt. Die Färbung gelingt am besten, wenn das Orange nicht in gewohnter Weise angewandt wird, vielmehr erst bei dem Differenzieren der Präparate mit Nelkenöl[1]). Die wie sonst mit Safranin und Gentianaviolett gefärbten Schnitte entwässert man gut durch Alkohol und überträgt sie in die gesätt. Lösung von Orange in Nelkenöl, wo sie beliebig lange verweilen können. Das Orange-Nelkenöl wird durch Abspülen in Xylol oder, falls man das Präparat in Zedernholzöl einbetten will, mit gewöhnlichem, nicht verdicktem Zedernholzöl entfernt[2]).

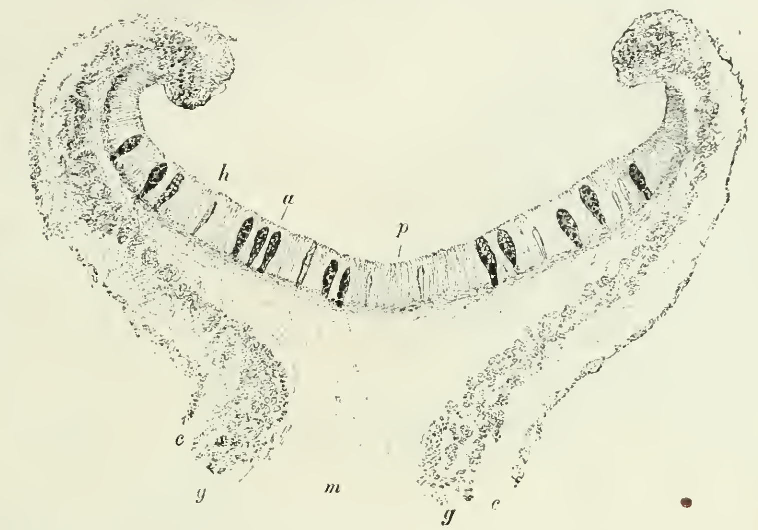


Fig. 208. Ein Apothecium von Anaptychia ciliaris. *h* Hymenium, *a* Asci, *p* Paraphysen, *c* Rindenschicht, *m* Markgewebe, *g* Algenschicht. Vergr. 45.

Die den Thallus der Flechten bildenden Pilze gehören, von ganz seltenen Ausnahmen abgesehen, zu den Ascomyceten. Die Apothecien der uns bereits bekannten Anaptychia ciliaris sind schüsselförmige Gebilde mit einem Gehäuse, das vom Thallus aus gebildet wird (Fig. 208). Dieses Gehäuse verschmälert sich an seiner Basis stielartig. Ein Querschnitt[3]) durch seinen Stiel zeigt konzentrischen Bau: auf eine im ganzen Umkreis gleichmäßig dichte Rindenschicht folgt eine Algen- oder Gonidienschicht. Das Innere des Stiels wird von dem aus lockeren Hyphengeflecht gebildeten Markgewebe eingenommen. — Wir führen dann mediane Längsschnitte durch das Apothecium aus. Diese zeigen uns das aus dem Thallusgewebe gebildete Gehäuse. Die Algenschicht (*g*) reicht bis an dessen Rand, der stellenweise in zilienartige Fortsätze auswächst. Der Apotheciumstiel hat sich gewissermaßen schüsselartig erweitert, um das Hymenium (*h*) aufzunehmen, das auf seinem Markgewebe (*m*) ruht. Das Hymenium

[1]) Nach S. Nawaschin, Flora, Bd. LXXXVI, 1899, S. 406.
[2]) Vgl. im übrigen Reg. IV Pilze, Brand- und Rostpilze.
[3]) Über die Methodik vgl. S. 393, ferner Reg. IV Flechten.

zeichnet sich durch bräunliche Färbung aus. Es besteht aus sehr zahlreichen, langen, äußerst schmalen, septierten Fäden, den Paraphysen (*p*); zwischen diesen, weit weniger zahlreich, stehen die keulenförmigen Schläuche, die Asci (*a*). Diese sind stets von verschiedenem Alter; die reifen führen acht braunwandige Sporen. Die Sporen sind ellipsoidisch, zweizellig, zwischen ihren beiden Zellen ein wenig eingeschnürt. Paraphysen wie Asci entspringen einer gleichfarbigen, verfilzten, horizontal ausgebreiteten Schicht von geringer Mächtigkeit, die als Subhymenialschicht unterschieden wird. Diese ruht auf dem Markgewebe des Stiels, von dem sie sich durch ihre bräunliche Färbung und den Mangel an luftführenden Räumen abhebt. Während, wie wir gesehen haben, die Hyphen des Thallus selbst mit Chlorzinkjodlösung nicht blau zu färben sind (S. 395), nimmt das Hymenialgewebe schon nach Zusatz von ein wenig Jodjodkaliumlösung dunkelblaue Färbung an. Die Wände der Hymenialelemente sind aus einer besonderen Modifikation von Zellulose, die als Stärkezellulose unterschieden worden ist, gebildet. — Durchmustert man den Thallus von Anaptychia ciliaris mit der Lupe, so fallen an ihm stellenweise warzenförmige, einzeln oder in Gruppen stehende Erhebungen auf. Werden an solchen Stellen zarte Querschnitte in großer Zahl geführt, so gelingt es auch wohl, eine solche Anschwellung zu treffen. Sie erscheint dann als eiförmiges, in den Thallus eingesenktes, mit einem Porus nach außen mündendes Gebilde, das „Spermogonium"[1] (Fig. 209). Dieses nimmt fast die ganze Tiefe des Thallus ein, wird seitlich von der Algenschicht (*g*), oben von der Rindenschicht (*c*) und unten von der Markschicht (*m*) umfaßt. Im Innern zeigt es sich von einer dichten Hyphenmasse erfüllt, die in älteren Spermogonien von spaltenförmigen Hohlräumen durchsetzt ist. Diese nehmen die stäbchenförmigen „Spermatien" auf, die von den Enden der die Hohlräume umkleidenden Hyphen abgegliedert werden. Durch die obere Öffnung des Spermogoniums können die Spermatien (*sp*) nach außen treten. Es ist mehrfach nachgewiesen worden, daß die Spermogonien

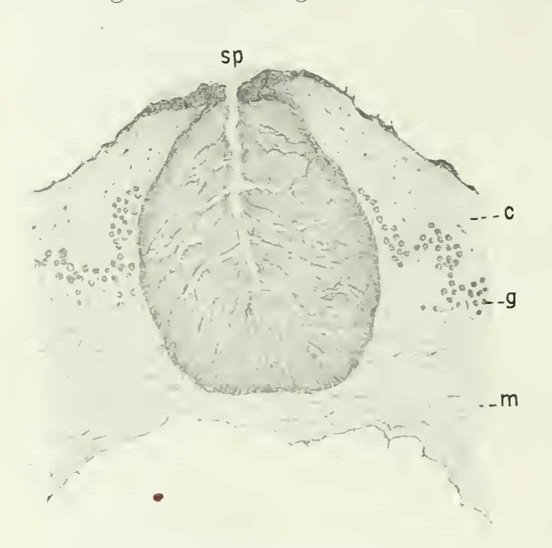


Fig. 209. Querschnitt durch den Thallus von Anaptychia ciliaris mit einem median getroffenen reifen Spermogonium; *c* Rindenschicht, *m* Markschicht, *g* Algenschicht des Thallus, *sp* Spermatien. Vergr. 95.

[1]) Näheres über die Flechten-Spermogonien bei H. GLÜCK, Verh. d. Nat.-Med. Ver., Heidelberg, N. F., Bd. VI, 1899, bes. S. 153 ff.

die männlichen Geschlechtsorgane der Flechten darstellen[1]) und daß eine Kopulation der Spermatien mit dem weiblichen Organ, der „Trichogyne", bei der Anlage des Apotheciums dessen Ausbildung einleitet. Es wurde allerdings auch festgestellt, daß die Spermatien vegetativ auskeimen können, was aber nicht als Beweis gegen die ursprünglich sexuelle Natur dieser Gebilde gelten kann, vielmehr wohl mit einem Funktionswechsel in Zusammenhang zu bringen ist[2]).

Falls fruktifizierende Anaptychia nicht zur Verfügung stehen sollte, können Apothecien der meisten anderen Flechten mit annähernd gleichem Ergebnis sie bei der Untersuchung ersetzen.

Eine eigenartige, zwischen Tier und Pflanze stehende Gruppe von Organismen soll hier im Anhang behandelt werden, es ist das die Gruppe der sog. Schleimpilze oder Myxomyceten, auch Mycetozoën genannt[3]). Als besonders günstiges Objekt wählen wir zunächst Didymium (Chondrioderma) difforme Duby[4]) zur Untersuchung. Es ist das einer der allergemeinsten Myxomyceten, den man auf faulenden Blättern, auf Mist u. dgl. überall findet. Auf faulenden Blättern erkennt man ihn besonders leicht; er bildet dort rundliche, weiße Körper, die bis über 1 mm im Durchmesser erreichen. Sie stehen stets in großer Zahl nebeneinander, doch meist zerstreut, ohne sich zu berühren. Hin und wieder verschmelzen einzelne miteinander. Sie sind ohne Stiel und sitzen dem Substrat mit breiter Basis auf. — Man kann sich Untersuchungsmaterial so gut wie sicher verschaffen, wenn man zur Kultur im Herbst die längere Zeit im Felde stehenden, zu Bündel vereinigten, trockenen Stengel der Vicia Faba nimmt[5]). Man weicht die Stengel mehrere Std. lang in Brunnenwasser ein und legt sie in ein flaches, mit Glasscheibe bedecktes Gefäß auf eine mehrfache Lage stark befeuchteten Fließpapiers. Nach wenigen Tagen haben sich Fruchtkörper von Didymium auf den Stengelstücken und auf dem Fließpapier gebildet und können nunmehr ein halbes Jahr lang und darüber zu neuen Aussaaten benutzt werden.

Führt man Längsschnitte durch solche Fruchtkörper oder präpariert sie mit Nadeln unter dem Präpariermikroskop, so überzeugt man sich leicht, daß sie eine doppelte Haut haben. Die äußere steht von der inneren ab, sie vereinigen sich an der Basis, sind manchmal aber auch am Scheitel verwachsen. Diese äußere Haut ist weiß und mit kleinen Körnern besetzt. Fügt man Salzsäure hinzu, so schäumt sie auf, die kleinen Körner schwinden, und es bleibt eine sehr zarte, farblose Membran

[1]) E. Stahl, Beitr. zur Entwicklungsgeschichte der Flechten, Heft I, 1877. Von neueren Arbeiten bes. E. Baur, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XVI, 1898, S. 363; ferner Flora, Bd. LXXXVIII, 1901, S. 319 u. Bot. Ztg., LXII. Jahrg., 1. Abt., 1904, S. 21; O. V. Darbishire, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXIV, 1900, S. 329.

[2]) A. Möller, Bot. Ztg., XLVI. Jahrg., 1888, Sp. 421.

[3]) A. de Bary, Mycetozoën, 2. Aufl., 1864; J. Rostafinski, Sluzowce, 1875; A. de Bary, Vergl. Morph. und Biologie der Pilze, Mycetozoën und Bakterien, 1884, S. 453; W. Zopf, Die Pilztiere oder Schleimpilze, 1885; J. Pavillard, Progressus rei bot., Bd. III, 1910, S. 499; E. Fischer, Schleimpilze, im Handwörterbuch der Naturwissensch., Bd. VIII, 1913, S. 919 ff.; A. Pascher, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXVI, 1918, S. 359 ff.

[4]) A. de Bary, l. c. 1864, S. 124; J. Rostafinski, Sluzowce, 1875, S. 177; A. Lister, Ann. of Bot., Bd. IV, 1889—91, S. 281. Vgl. a. Derselbe, Monograph of the Myxomycetes, 2. Aufl., 1911.

[5]) Diese Kulturen wurden nach entsprechenden Angaben von Stahl vorgenommen.

zurück. Die innere Haut ist in ihrem oberen Teil ebenfalls zart und farblos, im unteren wird sie dicker und färbt sich violett bis braun, im trockenen Zustand irisiert sie oft. Die dem Substrat angeschmiegte Basis des Sporangiums zeigt nur eine relativ dicke braune Wand, ohne oder nur mit Spuren von Kalk. Die Sporen sind kugelig, durchscheinend violettbraun, mit einem sehr zarten, punktierten Netzwerk an ihrer Oberfläche

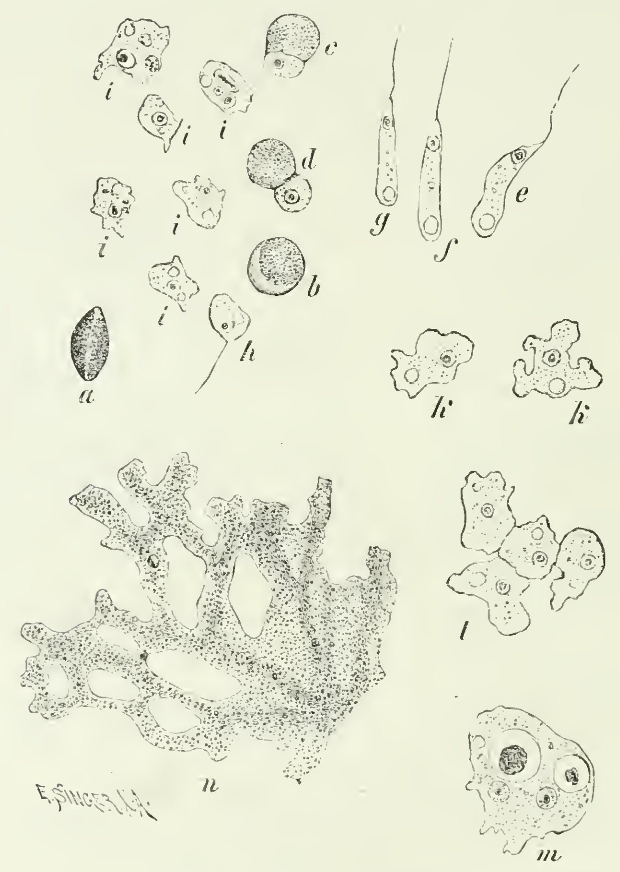


Fig. 210. Didymium difforme. *a* eine trockene, zusammengefaltete Spore, *b* eine geschwollene Spore, *c* und *d* Austritt des Inhalts aus der Spore, *e*, *f* und *g* Schwärmsporen, *h* Übergang des Schwärmers zur Myxamöbe, *i* jüngere, *k* ältere Myxamöben, *l* aneinanderliegende Myxamöben kurz vor der Verschmelzung, *m* ein kleines Plasmodium, *n* Teil eines ausgewachsenen Plasmodiums. *a*—*m* 540mal, *n* 90mal vergr.

versehen. Neben ihnen können im Innern der Sporangien Kapillitiumfasern (s. a. S. 538) in größerer oder geringerer Zahl vertreten sein, die der Grundfläche entspringen, strahlig auseinanderweichen, sich in ihrem Verlauf von der Basis nach dem Scheitel des Sporangiums verzweigen und an ihren oberen Enden mit der Innenwand des Sporangiums verwachsen. Bei manchen Gattungen der Myxomyceten sind diese Kapillitiumfasern viel schöner gebaut und bilden beispielsweise in dem Sporangium von Arcyria zylindrische oder etwas plattgedrückte, anastomosierende Röhren,

die mit leistenförmig vorspringenden Ringen, Halbringen oder Warzen besetzt sind, bei Trichia freie, an den Enden meist zugespitzte, zylindrische, lebhaft gelb, braun, auch rot gefärbte Röhren mit vorspringenden Spiralleisten auf der Außenseite.

Von Didymium difforme gelingen die Aussaaten besonders leicht[1]). Sie sind am besten in einem Dekokt von Kohlblättern oder von Vicia Faba-Stengeln auszuführen, gelingen aber nur dann vollständig, wenn sich Gewebeteile der betreffenden Pflanzen in dem Kulturtropfen befinden[2]). Das Dekokt ist längere Zeit im Kochen zu erhalten, um die in ihm vorhandenen Keime zu zerstören. Wir führen die Aussaat in Hängetropfen auf Deckgläsern aus, die wir zuvor einige Male durch eine Flamme zogen, um sie zu sterilisieren. Da leicht Sauerstoffmangel in den Kulturtropfen sich einstellt, so ist es gut, wenigstens in einige dieser Tropfen größere Algenfäden einzutragen, wodurch freilich die Gefahr einer Verunreinigung durch Bakterien sehr groß wird. Zum Zweck der Aussaat stechen wir mit der Spitze einer zuvor ausgeglühten Nadel, nachdem wir sie mit dem Dekokt befeuchtet, in ein Sporangium und tauchen nun die Nadelspitze, an der Sporen haften blieben, in den auf dem Deckglas befindlichen Tropfen. Das Deckglas wird hierauf umgekehrt und mit den Rändern auf den als feuchte Kammer dienenden Papprahmen gelegt. — Die ausgesäten Sporen sind, ähnlich wie monokotyle Pollenkörner, an der einen Seite eingefaltet (Fig. 210 *a*). Nach kurzem Liegen in dem Flüssigkeitstropfen tritt die Falte vor, und die Spore rundet sich kugelig ab (*b*). Die zuvor eingefaltete Membranstelle hebt sich durch schwächere Verdickung und hellere Färbung von den übrigen Teilen der Sporenhaut ab. Nach Ablauf von höchstens 24 Std. beginnt die Keimung. Man sieht den protoplasmatischen Inhalt aus der Spore hervortreten (*c*). Durchbrochen wird die Sporenhaut in ganz unregelmäßiger Weise an der zuvor eingefalteten Stelle. Der befreite Inhalt rundet sich kugelig ab (*d*); die entleerte Sporenhaut bleibt zurück. Alsbald beginnen sich Gestaltsänderungen an dem befreiten Inhalt zu zeigen. Schließlich streckt er sich und nimmt längliche Birnform an (*e, f, g*). — Das vordere Ende zieht sich zu einer langen Geißel aus, und, mit dieser im umgebenden Wasser peitschend, schwimmt der Schwärmer davon. Beim Schwimmen zeigt der Körper des Schwärmers eine große Biegsamkeit (*e*), gleichzeitig dreht er sich um seine Längsachse. Nach etwa 36 Std. ist der Flüssigkeitstropfen mit Schwärmern erfüllt, die bei dieser Spezies so groß sind, daß sie bei 300-facher Vergrößerung bereits bequem beobachtet werden können. Eine Anzahl Schwärmer hat zu gleicher Zeit schon das Schwimmen aufgegeben und gleitet am Deckglas oder an der Oberfläche des Tropfens fort. An solchen Schwärmern ist die lange Zilie, die tastend hin und her geführt wird, leicht zu sehen; auch können wir ohne Mühe, selbst bei der vorhin genannten Vergrößerung, uns von dem Vorhandensein des Zellkerns und einer pulsierenden Vakuole[3]) überzeugen. Der Kern liegt im vorderen Körperende und ist namentlich an dem stärker das Licht brechenden Kernkörperchen zu er-

---

[1]) Vgl. L. CIENKOWSKI, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. III, 1863, S. 418; A. DE BARY, l. c. 1864, S. 89, und l. c. 1884, S. 455.

[2]) Die Kulturen nach A. DE BARY und E. STAHL. Über weitere Kulturmethoden vgl. E. KÜSTER, Kultur der Mikroorganismen, 3. Aufl., 1921, S. 108.

[3]) Vgl. über diese A. DEGEN, Bot. Ztg., Bd. LXIII, 1905, 1. Abt., S. 163, ferner W. STEMPELL, Sitzber. d. Niederrhein. Ges. f. Natur- u. Heilk., 1913, 2. Hälfte, S. 60.

kennen (*e, f, g*). Die im hinteren Ende des Schwärmers von Didymium befindliche, pulsierende Vakuole sehen wir langsam anwachsen, so daß sie uns schließlich als rosa Bläschen erscheint, dann plötzlich schwinden (in Fig. 210 *e, f, g* ist die Vakuole im Augenblick maximaler Größe dargestellt). Im übrigen ist der Körper fast homogen, mit nur wenigen, deutlicher sichtbaren Körnchen. Die Bewegungen der gleitenden Schwärmer zu verfolgen, ist sehr anziehend, da diese die mannigfaltigsten Evolutionen ausführen. Oft biegt sich das vordere Ende scharf nach rückwärts und gleitet am hinteren entlang, bald rollt sich der Schwärmer zusammen und streckt sich im nächsten Augenblick wieder aus. Schließlich verliert sich die ursprüngliche Gestalt des Körpers und wird amöboid (*h*). Die Zilie ist zunächst noch vorhanden. Bald wird sie eingezogen, und wir haben eine Myxamöbe vor Augen (*i*). Diese fließt nun hin und her, ihre Gestalt dauernd verändernd. Der Kern und die pulsierende Vakuole sind noch vorhanden, doch in unbestimmter Lage. Außerdem werden jetzt kleine, fremde Körper in den Zelleib aufgenommen. Sie liegen in Vakuolen (Verdauungsvakuolen, vgl. die verschiedenen Figuren unter *i*) und stellen, wie sich bei Anwendung stärkerer Vergrößerungen erkennen läßt, in weitaus größerer Menge mehr oder weniger stark durch trypsinähnliche Verdauungsstoffe korrodierte Bakterien dar, deren die Myxomyceten in erster Linie als Nahrung bedürfen, wenn sie sich gut und normal entwickeln sollen[1]). Nehmen die Bakterien in der Kultur überhand, dann hemmen sie freilich alsbald die Entwicklung der Myxamöben und führen schließlich deren Tod herbei. — Die Schwärmer vermehren sich durch Zweiteilung, und nicht selten gelingt es, sie bei diesem Vorgang zu überraschen. Die Bewegung eines sich zur Teilung anschickenden Schwärmers wird zunächst träger; er rundet sich ab, wobei die Zilie eingezogen wird und die Vakuole schwindet. Der Zellkern teilt sich hierauf, was aber nicht unmittelbar zu verfolgen ist, da er während dieses Vorgangs unsichtbar wird. Es folgt eine Einschnürung in der Mitte des etwas gestreckten Körpers, der nach wenigen Min. in zwei kugelige Hälften geteilt ist. Jede Hälfte hat einen Kern erhalten; eine Vakuole tritt alsbald auf. Die Hälften beginnen sich amöboid zu bewegen, erhalten eine Zilie und schwärmen davon. — Sehr oft tritt in den Kulturen auf dem Stadium der Schwärmer oder der Myxamöben Enzystierung ein. Es geschieht das, wenn die Nährstoffe im Tropfen erschöpft oder die Entwicklungsbedingungen sonstwie ungünstig werden. Dann runden sich die Schwärmer oder Amöben ab und umgeben sich mit einer zarten Haut; sie bilden die Mikrozysten. Wird ein neuer Flüssigkeitstropfen dem vorhandenen hinzugefügt, so kriecht der Inhalt der Mikrozysten alsbald wieder hervor, eine äußerst zarte Haut zurücklassend. Er gestaltet sich von neuem zum Schwärmer. Am 3.—4. Tage haben die Myxamöben nicht unbedeutend an Größe zugenommen (*k*), sie zeigen stark gebuchteten Umriß. Ein Strömen der Plasmamasse im Innern des einer stetigen Gestaltsveränderung unterworfenen Körpers ist deutlich zu sehen. — Die meisten Kulturen kommen über dieses Stadium nicht hinaus. Sie gehen entweder durch Bakterien zugrunde, oder die Myxamöben kapseln sich immer wieder von neuem ein. In manchen Kulturen gelingt es jedoch, an einer größeren oder geringeren Anzahl von Myx-

[1]) Vgl. E. Pinoy, Ann. Inst. Pasteur, Bd. XXI, 1907, S. 622, und die Angaben über bakterienfreie Kultur von Myxomyceten bei G. A. Nadson, Scripta Botan. Bd. XV, St. Petersburg, 1899, S. 37.

amöben Verschmelzungserscheinungen zu sehen. Die Myxamöben lagern sich dicht aneinander (*l*), bleiben so eine Zeitlang fast unbeweglich liegen und kriechen hierauf wieder auseinander oder verschmelzen unter den Augen des Beobachters zu einer größeren Amöbe. So entstehen kleine Plasmodien (*m*), die einander begegnend, zu immer größeren sich vereinigen. Ist übrigens, wie eingangs schon erwähnt, Sorge dafür getragen worden, daß auch feste Gewebeteile der betreffenden Pflanzen, aus denen das Dekokt hergestellt wurde, sich in dem Tropfen befinden, so ziehen sich die Plasmodien oft auf diese zurück und wachsen dann zu bedeutender Größe heran. Sie verzehren die betreffenden Pflanzenteile so vollständig, daß nur die verholzten Elemente, vor allem Gefäßteile, zurückbleiben. Das Plasmodium selbst erscheint dann dicht mit körnigen Inhaltsmassen angefüllt, die es fast undurchsichtig machen. Die Verzweigungen des Plasmodiums zeigen reiche Gliederung (*n*) und bieten ein herrliches Objekt für Plasmaströmung[1]). Während die peripherischen Teile des Plasmodiums ruhen, sieht man die flüssigen Teile in dessen Innerem in kräftiger Bewegung begriffen. Der Strom fließt dem Rand zu, sich hierbei in zahlreiche, feine Zweige spaltend. Bei den Zuflußstellen werden neue Ausstülpungen am Plasmodium gebildet. Allmählich wird die Bewegung langsamer, steht endlich still, um nach einer Weile in die entgegengesetzte überzugehen. Auch diese hebt langsam an, erreicht ein Maximum der Schnelligkeit, wird dann wieder träger und schließt mit Stillstand ab. So bewegt sich die Substanz pendelartig hin und her; je nachdem aber die gegen den Rand oder die vom Rand hinweg gerichtete Strömung vorwiegt, werden neue Zweige gebildet oder schon vorhandene eingezogen. Wo Zweige aufeinanderstoßen, vereinigen sie sich, um eine Masche zu bilden. So verschmelzen auch Plasmodien derselben, niemals solche verschiedener Spezies miteinander. — An dickeren Strängen ist leicht die Existenz einer farblosen, äußeren Plasmaschicht festzustellen; diese ruht, während körnerreiches Plasma im Innern sich in Bewegung befindet. Doch ist das körnige Plasma nicht scharf gegen das homogene abgesetzt, auch reicht die in Strömung befindliche Masse nicht ganz bis an letzteres heran. Wo ein neuer Zweig entsteht, wölbt sich erst die homogene Plasmamasse vor, die körnige rückt nach. Alle diese Erscheinungen rufen den Eindruck hervor, daß in der homogenen Plasmaschicht nur die verdichtete, homogene Grundsubstanz des Plasmas, das „Hyaloplasma“, vorliegt, und daß dieses Hyaloplasma in den weniger dichten Teilen nur darum nicht homogen ist, weil es von Mikrosomen, Zellkernen und metaplasmatischen Einschlüssen erfüllt ist. Auch fehlen in dem weniger dichten Plasma nie mit wässrigem Inhalt erfüllte Vakuolen; in solchen „Verdauungsvakuolen“ zeigen sich öfters auch größere, von außen aufgenommene, fremde Körper eingeschlossen. — Das Plasmodium ist stets von einer schleimigen Substanz umgeben, die als Ausscheidungsprodukt aufzufassen ist und jedenfalls aus Nebenprodukten des Stoffwechsels besteht. Diese schleimigen Massen bleiben an den Orten zurück, von denen sich die Plasmodien zurückgezogen haben, und bezeichnen die Bahnen, in denen sich diese bewegten. — Die Aufnahme fremder Stoffe in das Plasmodium erfolgt durch Umfließen. Einmal in den Körper aufgenommen, werden sie, soweit verdaulich, aufgelöst ihre Sub-

[1]) Vgl. dazu u. a. V. Vouk, Denkschr. K. Ak. d. Wiss., Wien, Math.-Nat. Kl. Bd. LXXXIII, 1913, S. 653 ff.

stanz dem Körper des Plasmodiums assimiliert; die unverdaulichen Körper werden wieder ausgestoßen. Am 4. oder 5. Tag nach der Aussaat kriecht wohl das Plasmodium auch bis an den Rand des Deckglases, oft über diesen hinaus auf den Rahmen oder die Außenseite des Deckglases, beginnt sich in einzelnen Knotenpunkten zu sammeln und bildet hier wieder weiße, mit Sporen dicht erfüllte Sporangien.

Man fixiert die in Bewegung befindlichen Plasmodien sehr gut mit Alk. abs., mit 1-proz. Chromsäure, mit konz. Pikrinsäure oder Flemmingscher Lösung, indem man das ganze Deckglas in das betreffende Reagens legt. Hat man das Präparat alsdann sorgfältig ausgewaschen und in sehr verd. Hämatoxylin gefärbt, so kann man leicht die zahlreich in dem Körnerplasma verteilten, dunkel gefärbten Zellkerne ausfindig machen[1]). Durch Anwendung derartiger Fixierungs- und Färbungsmittel ließ sich feststellen, daß die Kernteilung vor der Sporenbildung eine Reduktionsteilung (vgl. darüber, auch zum nächsten, den XXXII. Abschn.) darstellt, daß ferner in den Plasmodien, die durch Kopulation der mit einfacher Chromosomenzahl in ihren Kernen ausgerüsteten Amöben gebildet werden, wobei auch die Kerne verschmelzen, die weiteren Teilungen mit doppelter Chromosomenzahl vor sich gehen[2]).

Dem Plasmodium von Fuligo varians Sommf. (Aethalium septicum) begegnet man oft im Freien, vornehmlich in und auf der Gerberlohe, wo es zoll- bis fußgroße, rahmartige, dottergelbe Massen bildet. Diese treten auch selbst im Winter in Gewächshäusern auf, in denen Gerberlohe als Unterlage dient. — Manchmal glückt es, aus Plasmodium-Stückchen, die man in einen verdunkelten, feuchten Raum auf Objektträger brachte, schön ausgebildete Plasmodien zu ziehen[3]). Sicherer aber geht man, wenn man ihre Rheotaxis, d. h. die Eigenschaft, sich dem Wasserstrom entgegen zu bewegen, benutzt, um sie auf die Objektträger zu locken. Wir stellen zu diesem Zweck[4]) ein Trinkglas auf, das wir bis an den Rand mit Wasser füllen, schneiden uns Streifen aus Fließpapier von etwas geringerer Breite als die unserer Objektträger, lassen die Fließpapierstreifen sich mit Wasser vollsaugen und führen je einen aus dem Glas auf die eine Fläche des vertikal aufgestellten Objektträgers. Der Objektträger wird durch den anhaftenden Papierstreifen in lotrechter Lage erhalten; wir lassen ihn übrigens etwas nach außen überhängen, damit er den Papierstreifen spannt und dieser sich nicht an die Außenwand des Trinkglases anlegt. Durch diesen Saugapparat einfachster Art wird ein dauernder Wasserstrom über eine Objektträgerfläche geleitet. Der ganze Apparat ist auf einer Sandschicht aufgestellt, die das herabsickernde Wasser aufnimmt. An die Basis eines jeden Objektträgers wird ein Stück Lohe mit aufsitzendem Plasmodium gebracht, und zwar der Seite des Objektträgers angelehnt, an der das Wasser hinabrinnt. Das Trinkglas muß von Zeit zu Zeit nachgefüllt werden. Der Apparat steht unter einer Glocke und ist außerdem mit einem dunklen Rezipienten überdeckt, damit das Licht die Bewegungsrichtung der Plas-

---

[1]) Vgl. F. Schmitz, Sitzber. d. Niederrhein. Ges., 4. Aug. 1870, S. 21; E. Strasburger, Zellb. u. Zellt., 3. Aufl., 1880, S. 79. S. a. Reg. IV Myxomyceten.

[2]) E. Jahn, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXIX, 1911, S. 231. Vgl. a. Skupienski, C. R. Akad. Sc., Paris, Bd. CLXV, 1917, S. 118 ff.

[3]) L. Kny, Bot. Wandtafeln, Text zu Tafel CXV, 1909, S. 516.

[4]) E. Strasburger, Jen. Zeitschr., Bd. X, 1876, S. 406, und Bd. XII, S. 619; E. Stahl, Bot. Ztg., XLII. Jahrg., 1884, Sp. 147.

modien nicht beeinflußt. Die Plasmodien bewegen sich nun an der befeuchteten Glasfläche aufwärts, und zwar in sehr zarten Strängen. Nach spätestens $^1/_2$ Tag haben sie den Objektträger mit einem sehr feinen, baumartig verzweigten Maschenwerk überzogen. Dieses können wir nun direkt unter dem Mikroskop auf dem betreffenden Objektträger untersuchen, nur müssen wir dafür sorgen, daß das Präparat während der Beobachtung nicht zu rasch austrockne, die Intensität des Lichtes nicht zu rasch steige und nicht zu groß werde. Es läßt sich auch wohl ein Deckglas auf das Präparat legen, wenn durch kleine Schutzleisten, etwa entsprechend dicke Roßhaarstückchen oder Wachsfüßchen, dafür gesorgt wird, daß das Plasmodium nicht gedrückt werde. Meist pflegt es sich von der immerhin erfolgenden Störung nach einiger Zeit zu erholen. Übrigens können wir es auch versuchen, die Plasmodien direkt unter ein Deckglas zu locken, wenn wir an der Seite des Objektträgers, an welcher der Wasserstrom herabfließen soll, zunächst Deckgläser aufkitten. Diese sind am besten an den vier Ecken auf Wachsfüßchen zu befestigen. Es geschieht nun häufig genug, daß ein Plasmodiumzweig von selbst unter ein solches Deckglas kriecht und sich dort ausbreitet; die so erhaltenen Plasmastränge sind sogar ganz besonders zart und durchsichtig. Überhaupt sind bei Fuligo nur die nach der geschilderten Methode dem Wasserstrom entgegen auf die Objektträger geleiteten Stränge zur Untersuchung geeignet, während jene, die auf einen horizontal gelegten Objektträger, der mit Plasmodienstücken bedeckt wurde, etwa hinüberwandern, zu dick und undurchsichtig sind. — Dieses Plasmodium ist nicht anders als das von Didymium gebaut, wenn auch für die Untersuchung weniger günstig. Außer sonstigen metaplasmatischen Einschlüssen führt es noch Körner von kohlensaurem Kalk und von gelbem Farbstoff, der einzelne Kalkkörner überzieht. — Trocknet die Gerberlohe bald aus, nachdem die Plasmodien sich in ihr zeigten, so bilden sich nicht selten Sklerotien. Solche findet man denn hin und wieder in alten Lohhaufen bei den Gerbern. Ein solches Sklerotium bildet einen gekröseähnlichen, unregelmäßig abgerundeten, wachsartig-zähen, gelben Körper von oft bedeutenden Dimensionen. Dieser läßt sich sehr gut mit dem Messer schneiden, und die Schnitte erscheinen unter dem Mikroskop wie aus einzelnen Zellen gebildet. Das ganze Sklerotium besteht nämlich aus kleinen runden Gebilden von etwas schwankender Größe. Man bekommt hin und wieder Sklerotien in die Hand, bei denen die einzelnen Kugeln von farblosen Membranen umgeben sind; fügt man Chlorzinkjodlösung hinzu, so färben sich diese Membranen violett. In anderen Fällen ist an den Kugeln eine differente Haut auch nach Chlorzinkjodbehandlung nicht zu erkennen. Fixiert man die Sklerotien und färbt zarte Schnitte durch sie mit Hämatoxylin, so kann man sich von der Existenz mehrerer Zellkerne in jeder Kugel überzeugen. Solche Sklerotien können, falls man in deren Besitz gelangte, gegen ein halbes Jahr lang benutzt werden, um neue Plasmodien zu erzielen. Man braucht sie zu diesem Zweck nur in entsprechend großen Stücken auf eine feuchte Unterlage, etwa auf mit Wasser oder Lohedekokt durchtränktes Fließpapier, zu legen.

Wir können nicht umhin, uns auch mit dem Bau des Fruchtkörpers von Fuligo varians bekannt zu machen[1]). Er geht unmittelbar aus dem Plasmodium hervor, und zwar kriecht das Plasmodium, das in der Jugend

---

[1]) A. de Bary, Mycetozoën, 2. Aufl., 1864, S. 11.

positiv hydrotaktisch war und infolgedessen die feuchteren Partien des Substrats aufsuchte, jetzt auf die trockneren Teile, so vornehmlich auf die Oberfläche, um dort zu fruktifizieren. Es hat sich eben beim Reifen des Plasmodiums die positive Hydrotaxis in eine negative verwandelt[1]. Wir finden den Fruchtkörper auf Lohhaufen in Gestalt größerer oder kleinerer, platter Kuchen von 1—2 cm Dicke. Er erscheint bei der Reife dunkelbraun. Versuchen wir ihn jetzt zu schneiden, so bekommen wir in den Präparaten im wesentlichen nur große Massen kleiner, runder, braun gefärbter Sporen. Zwischen diesen liegen zusammenhängende, körnige Hautstücke. Setzt man Salzsäure hinzu, so verschwinden die Körnchen unter heftigem Aufbrausen, sie bestanden aus kohlensaurem Kalk; zurück bleiben bräunlich gefärbte, faserige Membranteile. Außerdem sieht man, zwischen den Sporen verteilt, farblose, dünne, verzweigte, stellenweise angeschwollene Fasern. — Um Einblick in diese Verhältnisse zu gewinnen, müssen wir einen eben in Bildung begriffenen, noch gelb gefärbten Fruchtkörper in Alkohol einlegen. Führen wir nun durch diesen, nachdem er gehärtet, Schnitte senkrecht zur Oberfläche, so stellen wir bei schwacher Vergrößerung fest, daß das Innere des Fruchtkörpers von dicken, gewundenen Schläuchen durchzogen ist, deren Membran mit Kalkkörnern dicht besetzt ist. Letztere erscheinen gelb, weil so gefärbte Substanz sie bedeckt. Das Innere der Schläuche wird von einer Unzahl von Sporen erfüllt; die Schläuche sind somit Sporangien. Außer den Sporen sieht man in deren Innerem noch ein netzförmiges Geflecht von Fasern, das Kapillitium. Diese Fasern sind der Sporangienwand angewachsen, stellenweise zu Blasen erweitert, die Kalkkörner und ihnen anhaftenden Farbstoff führen. Der Querschnitt zeigt, daß an die fertilen, inneren Schläuche nach oben und unten ebensolche sterile, die Rinde bildende, grenzen. Sie stellen nur die äußeren Enden der fertilen Schläuche vor, und sind ebenso verflochten wie jene. In der Rinde kollabieren die Schläuche sehr bald, und ihre mit Kalkkörnern bedeckten Wände bilden eine zusammenhängende Kruste. — Diese, sowie Reste der schließlich auch zerfallenden, inneren Schlauchteile, waren uns als mit Kalk inkrustierte Häute in dem reifen Fruchtkörper aufgestoßen, auch sahen wir da bereits die relativ gut erhaltenen Kapillitiumfasern. — Der Fruchtkörper von Fuligo varians ist somit ein zusammengesetzter, in dem die einzelnen Schläuche als Sporangien aufzufassen sind; er bildet ein sog. Aethalium, während wir in Didymium difforme eine Spezies kennen lernten, die in einfachen Sporangien fruktifiziert.

Mit Erfolg kam bei einem parasitären Myxomyceten[2], der Plasmodiophora Brassicae, welche die sog. Kohlhernie, knollenartige Anschwellungen am Strunk und den Wurzeln von Brassica-Arten, veranlaßt, u. a. die Fixierung mit starker Chrom-Osmium-Essigsäure und Färbung mit Safranin-Gentianaviolett-Orange zur Anwendung (vgl. S. 65 bzw. 83)[3]. Die Einwirkung des Fixierungsgemisches auf sehr kleine Stückchen der infizierten Pflanze durfte nicht über 20—24 Std. ausgedehnt werden, da sonst

[1]) Vgl. E. Stahl, l. c. 1884, Sp. 152.

[2]) Manches deutet darauf hin, daß die Plasmodiophoreen in nähere Verwandtschaft mit den unter die Phycomyceten eingereihten Chytridiadeen zu stellen sind. Vgl. O. Winge, Ark. f. Bot., Bd. XII, 1913, S. 1 ff.; E. T. Schwartz, Ann. of. Bot., Bd. XXVIII, 1914, S. 127 ff.; ferner E. Jahn, Zeitschr. f. Bot., Bd. VI, 1914, S. 877.

[3]) Vgl. S. Nawaschin, Flora, Bd. LXXXVI, 1899, S. 405 ff. Über die Zytologie von Plasmodiophora vgl. weiter O. Winge, l. c. 1913; ferner E. J. Schwartz, l. c. 1914 und G. Pollacci, Atti Ist. bot. Pavia, Ser. 3a, Bd. XV, 1914, S. 291 ff.

die feineren Einzelheiten der Struktur litten. Die Färbung wurde an Mikrotomschnitten vollzogen, die in gewohnter Weise hergestellt (Einleitung S. 45 ff.) und mit Aq. dest. den Objektträgern aufgeklebt waren. Schwärzungen durch Osmiumsäure ließen sich mit Wasserstoffsuperoxyd beseitigen. Die Präparate wurden in eingedicktes Zedernholzöl eingeschlossen. Auch Fixierung mit alkohol. Pikroformol (80 ccm einer 1-proz. Pikrinsäurelösung in 95-proz. Alkohol, 10 ccm Formol, 10 ccm Salpetersäure) und Färbung der Mikrotomschnitte mit Eisen-Hämatoxylin-Eosin ergab gute Resultate[1]).

In den Plasmodien der Myxomyceten sind oft Farbstoffe eingelagert, die ihnen bestimmte, charakteristische Färbungen verleihen (s. z. B. S. 537). Bei den Cribrarien hat man in den Plasmodien schwarze Körnchen, die sich durch auffallende Widerstandsfähigkeit gegen Säuren und Alkalien auszeichnen, als Diktydinkörner unterschieden[2]). Sie stellen möglicherweise Kohlenhydrate dar[3]).

---

[1]) R. Maire et A. Tison, Ann. Mycolog., Bd. VII, 1909, S. 228.

[2]) E. Jahn, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XIX, 1901, S. 104.

[3]) Fr. Czapek, Biochemie der Pflanzen, 2. Aufl., Bd. I, 1913, S. 305, bzw. 3. Aufl., Bd. I, 1921, Ebenda.

XXV. Abschnitt.

Fortpflanzung der Bryophyten. Geschlechtsorgane. Sporogone und Sporen.

Fixierung und Färbung der Spermatozoiden. Ausbildung des Peristoms.

Untersuchungsmaterial.

Marchantia polymorpha mit Brutkörpern, auch männliche und weibliche Pflanzen mit den die Geschlechtsorgane und Sporogone bergenden Rezeptakeln, frisch, evtl. in Alkohol. Mnium hornum mit Geschlechtsorganen und Sporogonen. Polytrichum juniperinum mit Geschlechtsorganen. Alle diese Objekte frisch.

Funaria hygrometrica mit Sporogonen.

Wichtigste Reagentien.

1-proz. Osmiumsäure. — Jodjodkalium.

Das allgemein verbreitete gemeine Lebermoos[1]) (Marchantia polymorpha) vermehrt sich rasch auf vegetativem Wege durch seine Brutkörper (Fig. 211). Solche sind bei den Lebermoosen überhaupt häufig. Hier treten sie uns in einer besonders ausgezeichneten Form entgegen. Die Brutkörper der Marchantia entstehen auf der Rückenfläche des Thallus in becherförmigen Behältern[2]). Diese haben einen schön gezähnten Rand; aus ihrem Grund erheben sich die lebhaft grünen Brutkörper. Ein medianer Längsschnitt durch den Becher, parallel zur Längsachse des tragenden Sprosses geführt, zeigt, daß er nach oben zu sich zunächst etwas verengt und dann erst ziemlich plötzlich zu dem äußeren Saum erweitert. Das Luftkammern bildende Gewebe setzt sich in die Außenseite des Bechers bis oberhalb seiner Erweiterungsstelle fort. Der Grund des Bechers ist von einzelligen Keulenpapillen eingenommen, deren Membranen zu Schleim aufquellen. Zwischen den Keulenpapillen finden sich vereinzelt auch zweizellige, dann auch solche, deren obere Zelle sich weiter quer geteilt hat. Die untere Zelle bleibt dauernd einfach und bildet die Stielzelle; die Nachkommen der oberen Zellen teilen sich auch longitudinal (Fig. 211 *A*). Die Abtrennung der Brutkörper von ihrem einzelligen Stiel und ihre Entleerung aus dem Becher erfolgt durch Vermittlung des stark quellbaren Schleims, der von den einzelligen Keulenpapillen am Grund des Bechers erzeugt wird. Die beiden seitlichen Einbuchtungen des biskuitförmigen Brutkörpers (*v*) bergen je einen Vege-

[1]) Vgl. für Bryophyten, K. GOEBEL, Organographie der Pflanzen, 2. Aufl., II. Teil, 1915—18, S. 558 ff.; speziell für Lebermoose, V. SCHIFFNER, Progressus rei bot., Bd. V, 1917, S. 387 ff.

[2]) Über deren Entwicklung vgl. CH. R. BARNES and W. J. G. LAND, Bot. Gaz., Bd. XLVI, 1908, S. 401.

tationspunkt, den kurze Papillen schützen. Die Zellen des Brutkörpers sind chlorophyllreich, doch fallen auf beiden Flächen größere chlorophyllfreie Zellen auf (*r*), die sich der Mitte näher halten, sonst unregelmäßig zerstreut sind. Am Rand führen einzelne Zellen (*o*) Ölkörper. Die großen, chlorophyllfreien Zellen (*r*) sind es, die sich nach der Aussaat der Brutkörper in 1—2 Tagen zu Wurzelhaaren entwickeln, und zwar nur auf der feuchteren Schattenseite des Brutkörpers, während seine entgegengesetzte, von weniger feuchter Luft berührte Seite zur morphologischen Oberseite sich ausbildet[1]).

Die Geschlechtsorgane der Marchantien stehen auf besonderen Rezeptakeln, die wir bei derselben Marchantia polymorpha betrachten

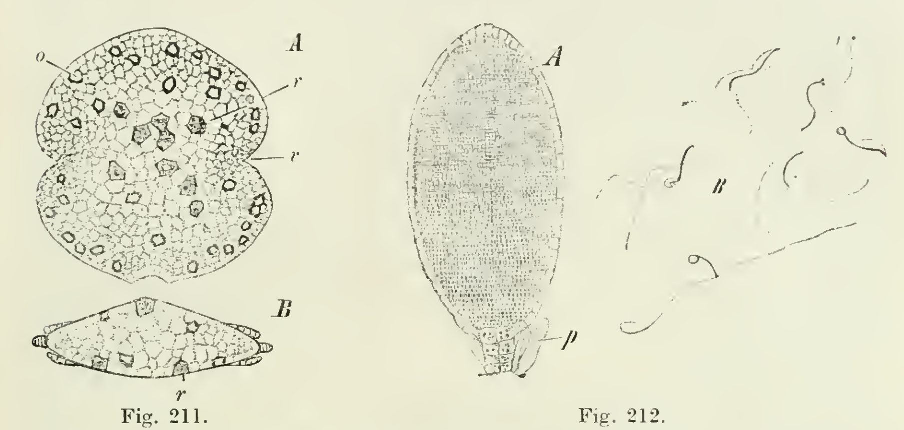


Fig. 211. Fig. 212.

Fig. 211. Brutkörper von Marchantia polymorpha. *A* von der Fläche; *B* im Querschnitt; *v* Vegetationspunkte; *o* Ölzellen; *r* Rhizoidenzellen. Vergr. 75.

Fig. 212. Marchantia polymorpha. *A* ein fast reifes Antheridium im optischen Durchschnitt; *p* Paraphyse. *B* Spermatozoiden mit 1-proz. Osmiumsäure fixiert. *A* 90 mal, *B* 600 mal vergr.

wollen, wo sie auch an Exemplaren, die nur vegetative Fortpflanzung aufweisen, durch Steigerung der Lichtintensität und direkte Beleuchtung hervorgelockt werden können[2]). Männliche und weibliche Rezeptakeln sind leicht zu unterscheiden; jene zeigen sich als scheibenförmige, diese als schirmförmige Gebilde. Die beiden Geschlechter sind auf verschiedene Pflänzchen verteilt[3]); die Receptacula samt ihren Stielen stellen besonders umgebildete Zweigsysteme dar. Wir führen zwischen Holundermark zarte Längsschnitte durch das männliche Receptaculum aus und überzeugen uns, daß es auf seiner Oberseite ganz den Bau der Rückenfläche des Thallus zeigt, und daß ebenso seine Unterseite der Ventralfläche des Thallus entspricht, auch Rhizoiden und Schuppen trägt. In der Oberseite sind aber in besonderen Höhlungen die Antheridien (Fig. 212 *A*) eingesenkt. An gelungenen Schnitten stellen wir fest, daß in jeder Höhlung sich nur e i n Antheridium nebst einigen kurzen, einzelligen Paraphysen (*p*) befindet;

[1]) A. Dachnowski, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLIV, 1907, S. 255. S. a. H. Buch, Über die Brutorgane der Lebermoose, Helsingfors, 1911.

[2]) A. Dachnowski, l. c. 1907, S. 276 ff.

[3]) Über die Verteilung der Geschlechtsorgane bei den Bryophyten vgl. G. Schellenberg, Beih. z. bot. Zentralbl., 1. Abt., Bd. XXXVII, 1920, S. 115 ff.

die Höhlung schließt bis auf einen engen Kanal über dem Antheridium zusammen. Das Antheridium stellt einen kurzgestielten, ovalen Körper mit einschichtiger, chlorophyllhaltiger Wandung dar. Die Mutterzellen der Spermatozoiden sind durch fortgesetzte, sich rechtwinklig schneidende Teilungen angelegt worden und bilden selbst im fast reifen Antheridium noch geradlinig angeordnete Quer- und Längsreihen (vgl. die Figur). Jede dieser Zellen teilt sich schließlich noch einmal und gibt zwei Spermatozoiden den Ursprung[1]). Kurz vor der Reife des Antheridiums treten die Mutterzellen, sich abrundend, aus dem Verband, die Wand des Antheridiums reißt am Scheitel auf, und sie werden entleert. Bringt man einen Tropfen Wasser auf die Oberfläche eines ausgewachsenen Hutes, so sieht man das Wasser sich rasch über dessen ganze Fläche ausbreiten und alsbald milchig werden. Untersucht man nunmehr dieses Wasser bei starker Vergrößerung, so findet man es von einer Unzahl solcher Mutterzellen erfüllt. Doch ihre Wand verquillt bald, wird schließlich durchbrochen, und die Spermatozoiden entweichen in das umgebende Wasser. Sie sind relativ klein und weisen einen fadenförmigen Körper mit zwei langen Zilien auf. Am hinteren Ende haftet ihnen ein Plasmakügelchen an, das sich während des Schwärmens von ihrem Körper ablöst[2]). Um sie deutlich zu sehen, setzen wir dem Präparat einen Tropfen 1-proz. Osmiumsäure zu und können nun die schön fixierten Gebilde bequem studieren (Fig. 212 *B*). Dasselbe erreichen wir durch Zusatz einer Spur Jodjodkaliumlösung.

Eine besonders rasche Fixierung und Färbung der Spermatozoiden von Marchantia erlangen wir mit Osmiumsäuredämpfen und Fuchsin-Methylgrün. Wir breiten den Wassertropfen, in dem sich die Spermatozoiden auf einem Deckglas befinden, flach aus und legen nun dieses Deckglas mit dem Tropfen nach unten über einen kleinen Behälter, der ein- bis mehrproz. Osmiumsäurelösung enthält. Die Fixierung ist in kurzer Zeit vollzogen, worauf etwas Fuchsin-Methylgrün dem Präparat aufgetropft wird. Man erkennt dann, daß die zwei Zilien der Spermatozoiden der Muscineen der Rückenfläche des vorderen Abschnittes in einiger Entfernung von der Spitze entspringen. Der Körper des Spermatozoids wird durch das Farbengemisch blau gefärbt mit Ausnahme seines vorderen Endes, der Zilien und des körnigen Plasmakörpers am hinteren Abschnitt, die rote Färbung annehmen. Die Hauptmasse des Körpers besteht somit aus Kernsubstanz, das Zytoplasma ist auf die rot sich färbenden Partien beschränkt[3]).

Das weibliche Receptaculum bildet, so wie das männliche, ein radial ausgebreitetes Zweigsystem; es zeigt für gewöhnlich 9 Strahlen. Zwischen diesen sind 8 Archegonienreihen an der Unterseite des Receptaculums befestigt. Auffallend ist im Verhältnis zum männlichen

---

[1]) Über die Einzelheiten der zur Spermatozoidbildung führenden Teilungsschritte vgl. die Arbeiten von S. Ikeno, 1903, E. Escoyez, 1907, W. Woodburn, 1911, und M. Wilson. Bei letzterem, Ann. of Bot., Bd. XXV, 1911, S. 415 ff. die näheren Literaturangaben. Dazu noch W. Woodburn, Ebenda, Bd. XXVII, 1913, S. 93 ff. Für die Untersuchung bewährten sich besonders dünne, mit Heidenhains Eisen-Hämatoxylin gefärbte Mikrotomschnitte aus Material, das mit verd. Flemmingschem Gemisch fixiert war. S. a. Reg. IV Moose.

[2]) Dieses Kügelchen stellt nach A. A. Sapěhin, Arch. f. Zellforschg., Bd. XIII, 1915, S. 379 eine Plastide (Chromatophor) dar.

[3]) E. Strasburger, Hist. Beitr., Heft IV, 1892, S. 124. Dort die Literatur.

Receptaculum der Unterschied, daß hier die Geschlechtsorgane auf der Unterseite stehen; sie gehören jedoch der morphologischen Oberseite an. Diese Erscheinung hängt mit einer frühzeitigen Verschiebung der dortigen Wachstumszone nach der Unterseite des Receptaculums zusammen. Unter dem Präpariermikroskop werden wir feststellen können, daß jede zwischen 2 Strahlen liegende Archegonienreihe von einer gemeinschaftlichen, einschichtigen, schleierartigen, am Rand gefransten Hülle eingefaßt wird. Wir führen zwischen Daumen und Zeigefinger zarte Längsschnitte durch ein relativ junges Receptaculum aus, wobei wir auch Alkoholmaterial verwenden können, und bekommen unschwer an einzelnen dieser Schnitte die weiblichen Geschlechtsorgane, die Archegonien, zu sehen. Die ältesten liegen nahe dem Rand, die fortschreitend jüngeren immer näher dem Stiel. Die ersten reifenden Archegonien haben ihren Hals am Rand der Scheibe nach oben umgebogen, die folgenden richten ihn gerade abwärts. Ein annähernd reifes Archegonium (Fig. 213 *A*) läßt einen kurzen Stiel, einen etwas angeschwollenen Bauchteil und einen schlanken Halsteil unterscheiden. Die Zentralstelle des Bauchteils ist erfüllt vom Ei. Von diesem wird kurz vor der Reife eine Bauchkanalzelle abgetrennt. Im Ei ist der Kern leicht zu sehen. Der Hals ist durchzogen von dem Halskanal, der aus einer Reihe von 4 Halskanalzellen hervorgegangen ist, deren Querwände aufgelöst wurden. Der desorganisierte Inhalt der 4 Halskanalzellen ist zu einem zusammenhängenden Strang verschmolzen. — Zwischen den Archegonien sieht man zahlreiche, kleine, blattartige Schuppen dem Receptaculum entspringen. Ebenso hat man an vielen Präparaten die einschichtige Fläche der am Rand gefransten, den ganzen Archegoniumstreifen schützenden Hülle vor Augen. Zahlreiche ihrer Zellen enthalten Ölkörper.

Bei frischem Material läßt sich leicht unter dem Mikroskop das Öffnen des Archegoniums beobachten. Man führt rasch Längsschnitte durch ein weibliches Receptaculum, das sich noch nicht oder nur wenig auf seinem Stiel erhoben hat, legt sie trocken unter ein Deckglas und durchmustert bei hinreichend starker Vergrößerung. Glaubt man ein reifes Archegonium erkannt zu haben, so bringt man, während man beobachtet, einen Wassertropfen an den Rand des Deckglases. Nach dessen Zutritt öffnet sich das Archegonium fast sofort. Die Ursache des Öffnens liegt in der starken Quellung des im Halskanal befindlichen Inhalts. Die Halszellen weichen am Scheitel des Halses auseinander. Es tritt der Inhalt der Halskanalzellen zunächst hervor, dann folgt der Inhalt der Bauchkanalzelle. Der homogene Teil dieses Inhalts wird von einem stark quellenden Schleim gebildet, der sich im umgebenden Wasser verteilt; die körnigen Inhaltsmassen werden dort hingegen langsam desorganisieren. Gleich nach Entleerung der Bauchkanalzelle hat sich das Ei in der Zentralzelle des Bauchteils abgerundet (Fig. 213 *B*). An seinem vorderen Rand ist öfters, doch nicht immer, eine hellere Stelle, der Empfängnisfleck, zu unterscheiden. Auch das Eindringen der Spermatozoiden in den Halskanal kann man bei Marchantia leicht verfolgen. Man setzt zu diesem Zweck dem Präparat einen Wassertropfen zu, der zuvor auf einem reifen, männlichen Receptaculum verweilt hat. Die Spermatozoiden sammeln sich

alsbald in dem von einem Archegonium ausgestoßenen Schleim, und man sieht sie in den Hals eintreten, wo sie unsichtbar werden. Das Archegonium scheidet einen eiweißhaltigen Stoff[1]) aus, der als chemischer Reiz auf die Spermatozoiden wirkt und deren Bewegungsrichtung bestimmt. So gelangen sie durch den vom Archegonium ausgestoßenen Schleim, in dem sie sich langsam in der Richtung zur Halsöffnung fortbewegen, in diese. — Interessant ist es, festzustellen, daß an einem unbefruchteten Archegonium der Halsteil sich nicht schließt, und das Archegonium in solchem Zustand langsam zugrundegeht. Ist hingegen spermatozoidenhaltiges Wasser dem Präparat zugesetzt und das Ei befruchtet worden, so schließt sich der Halsteil durch von oben nach unten fortschreitende Verengung schon nach wenigen Stunden. Hebt man das Präparat auf, so kann man nach 24 Stunden das Vorhandensein einer Zellhaut um das befruchtete Ei bereits erkennen. In den nächstfolgenden Tagen nimmt die Dicke dieser Haut noch zu.

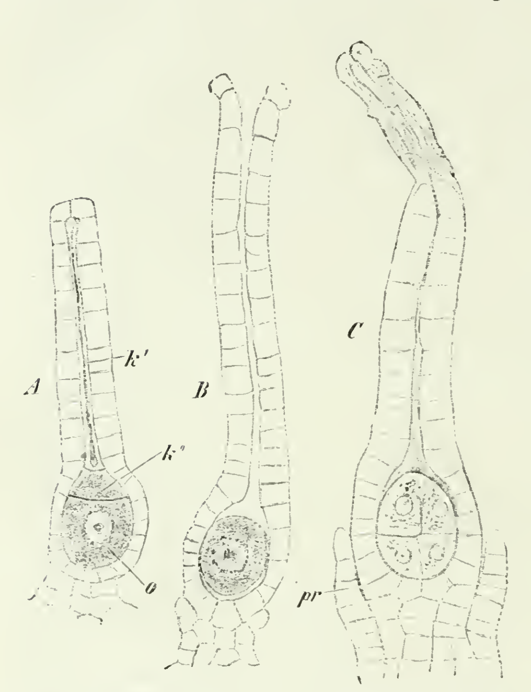


Fig. 213. Marchantia polymorpha. *A* junges, *B* älteres geöffnetes Archegonium; *C* befruchtetes Archegonium nach erfolgtem Beginn der Keimbildung. *k'* Halskanalzelle; *k''* Bauchkanalzelle; *o* Ei; *pr* Perianthium. Vergr. 540.

In der Natur, wo männliche und weibliche Pflänzchen meist dicht zusammenstehen und durcheinanderwachsen, geschieht die Übertragung der Spermatozoiden auf die weiblichen Rezeptakeln meist, wenn nicht immer, bei Regen durch mechanisches Abspritzen der spermatozoidenhaltigen Tropfen von den männlichen, zeitlich früher entwickelten und zur Zeit der Befruchtung hoch über den weiblichen stehenden Rezeptakeln. Da die letzteren gewölbt und in nach unten konvergierenden Strahlen geteilt sind, ihre Oberseite außerdem im Gegensatz zu jener der männlichen noch mit Papillen besetzt ist, die eine schnelle Verbreitung des spermatozoidenhaltigen Wassers und dessen Ableitung nach unten begünstigen[2]), so können die Spermatozoiden leicht zu den Archegonien gelangen.

---

[1]) Mit Hilfe der PFEFFERschen Kapillarmethode (s. S. 560) ließ sich nachweisen, daß die Marchantia-Spermatozoiden von Proteïnstoffen, ferner von Kalium-, Rubidium- und Cäsiumsalzen angelockt werden. B. LIDFORSS, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLI, 1905, S. 65; s. a. Å. ÅKERMANN, Zeitschr. f. Bot., Bd. II, 1910, S. 94.

[2]) K. GEHRMANN, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXVII, 1909, S. 341.

Die befruchteten Archegonien, denen man auf den Längsschnitten begegnet, zeigen einen geschrumpften und gebräunten Halsteil, während das Ei sich geteilt hat (Fig. 213 *C*). Um die Basis des Archegoniums beginnt sich, aus seinem Fuß hervorwachsend, eine becherförmige Hülle, das sog. Perianthium (*pr*) zu entwickeln. Es hüllt alsbald das ganze angeschwollene Archegonium ein. Auf Längsschnitten durch Receptakeln, die ihre Randstrahlen bereits emporgerichtet haben, sieht man die lebhaft grünen, angeschwollenen Archegonien mit entsprechend erweitertem Grund der Rezeptakularfläche aufsitzen, am Scheitel von dem Rest des Archegoniumhalses gekrönt. — Aus dem befruchteten Ei geht allmählich das Sporogonium hervor, das man auf Längsschnitten zu sehen bekommt, welche durch noch ältere Receptakeln geführt wurden. Jedes dieser Sporogone stellt eine kurz gestielte, ovale, gelblichgrüne Kapsel dar. Die Wand dieser Kapsel ist einschichtig; breitet man sie mit den Nadeln aus und betrachtet sie bei stärkerer Vergrößerung, so fallen die charakteristischen Verdickungsringe in ihren sonst dünnwandigen Zellen auf. Die gelbwandigen Sporen sind fein punktiert. Zwischen ihnen liegen schmale, lange, an den Enden zugespitzte Zellen, die durch je 2 braune Schraubenbänder an ihrer Wand ausgezeichnet sind; es sind das die Schleuderer oder Elateren. Das Innere der Kapsel wird ausschließlich von Sporen und Elateren erfüllt. An bereits geöffneten Kapseln stellt man fest, daß ihr Öffnen mit mehreren sich zurückkrümmenden Zähnen am Scheitel erfolgte. Die Elateren sind stark hygroskopisch, krümmen sich bei Feuchtigkeitsänderungen der Atmosphäre hin und her und verhelfen so zur Sporenaussaat. — Nicht bei allen Marchantien werden die Geschlechtsorgane auf besonders ausgebildeten Rezeptakeln emporgehoben, und bei anderen Lebermoosen fehlt diese Erscheinung überhaupt. Dagegen kommt es dort öfters vor, daß der Stiel des Sporogoniums sich bedeutend streckt und die Kapsel mit den Sporen emporhebt, was die Sporenaussaat fördert.

Die Antheridien der Laubmoose untersucht man am besten bei einer Gattung, welche auffällige Antheridienstände bildet. Wir wählen einen Vertreter der Gattung Mnium, nämlich das allgemein verbreitete M n i u m h o r n u m , ein Sternmoos, das im Mai sehr reichlich Antheridien und Archegonien aufweist, und gleichzeitig auch Sporogone trägt. Die Antheridienstände sind viel auffälliger als die Archegonienstände und somit leicht zu finden. Sie erscheinen als dunkelgrüne, scheibenförmige, von sog. Hüllblättern oder Perigonialblättern gebildete Rosetten am oberen Ende der Sprosse. Nach dem Innern der Rosette zu nehmen diese Blätter rasch an Größe ab. In den Achseln der äußeren, vornehmlich aber der inneren Hüllblätter stehen zahlreiche Antheridien und Safthaare (Paraphysen), die auch den ganzen Achsenscheitel einnehmen. Dies zeigen leicht mediane Längsschnitte des Antheridienstandes, die man am besten zwischen den Fingern ausführt, den Sproßscheitel beim Schneiden abwärts haltend. Man sieht an diesen Längsschnitten, daß die Sproßachse an der Ansatzstelle der Geschlechtsorgane sich scheibenförmig erweitert, in ihrer Mitte sogar ein wenig vertieft ist. Das zentrale, den Mnium-Arten eigene Leitbündel hat eine entsprechende Erweiterung erfahren; seine Elemente sind breiter und kürzer geworden, ohne ihren prosenchy-

matischen Charakter einzubüßen; sie lassen z. T. quere Tüpfelung erkennen. Diese Elemente enden in einem chlorophyllhaltigen Gewebe, das sich unter dem Antheridienstand ausbreitet. Die Antheridien und die Paraphysen sind ohne weiteres als solche zu erkennen und ihr Bau leicht zu ermitteln. Die Antheridien sind keulenförmige, an beiden Enden etwas verjüngte, kurz gestielte Körper. Die Zellen ihrer Wand enthalten zahlreiche Chlorophyllkörner. Wo der Längsschnitt ein Antheridium geöffnet hat, sieht man, daß seine Wand einschichtig ist. Der Inhalt besteht aus kleinen, farblosen Zellen, deren Scheidewände auf jüngeren Entwicklungszuständen deutlich rechtwinklige Schneidung zeigen. Der aus älteren durch den Schnitt geöffneten Antheridien hervorgetretene Inhalt zeigt sich aus abgerundeten, doch noch miteinander verklebten Zellen gebildet, den Spermatozoidenzellen, in denen der fadenförmige Körper der Spermatozoiden öfters schon zu erkennen ist[1]). Die Chlorophyllkörner am Scheitel reifender Antheridien nehmen etwas bräunlichen Ton an. Entleerte Antheridien sind an ihrem Scheitel geöffnet. Die Paraphysen zeigen sich uns als einfache, Chlorophyllkörner führende Zellfäden, deren Zellen allmählich nach oben zu anschwellen, dann sich aber (wenigstens die oberste) wieder verjüngen, wobei die oberste Zelle stets zugeschärft ist. Die Wände der Zellen sind öfters in den unteren Teilen der Paraphysen, manchmal auch höher an ihnen hinauf, gebräunt. Querschnitte durch die unteren Teile des Antheridienstandes zeigen in instruktiver Weise die Verteilung der Antheridien, ihr Verhältnis zu den Hüllblättern und den Paraphysen und führen uns zugleich zahlreiche Querschnitte durch die Antheridien selbst vor.

Noch auffallender als die Antheridienstände von Mnium sind die rotgefärbten der Polytrichum-Arten, die man ebenfalls im Mai findet. Bei Polytrichum juniperinum unterscheiden sich die äußeren Hüllblätter, die das Perigon bilden, nicht nur durch ihre Färbung von den Laubblättern, sondern auch dadurch, daß ihr einschichtiger Scheidenteil sich bis an die Blattspitze fortsetzt. Die Bildung der grünen, für Polytrichumblätter charakteristischen Lamellen bleibt auf den obersten Blatteil, und zwar fast nur auf die Nerven, beschränkt. An den rasch kleiner werdenden, das Innere des Antheridienstandes einnehmenden, rotbraunen Hüllblättern werden die grünen Lamellen nur noch auf der äußersten, nach außen scharf umgebogenen Spitze erzeugt. So erscheint das Blatt schließlich fast nur auf seinen Scheidenteil reduziert. Die Antheridien und Paraphysen stehen in den Achseln der Hüllblätter. Die Mitte des Antheridienstandes wird aber von einer vegetativen Knospe eingenommen, in die sich der Zentralstrang

[1]) Eine eingehendere Untersuchung dieser Verhältnisse ist auch hier nur an fixiertem, mit dem Mikrotom geschnittenen und dann gefärbten Material möglich. Als Fixierungsmittel hat sich bes. das FLEMMINGsche Gemisch, als Färbungsmittel HEIDENHAINs Eisen-Hämatoxylin bewährt. S. a. Reg. IV Moose. — Betr. d. Spermatogenese bei Laubmoosen vgl. die Arbeiten von P. ARENS, 1907; W. u. J. Docters VAN LEEUWEN-REIJNVAAN, 1907, 1908; M. WILSON, 1910, 1911; CH. E. ALLEN, Arch. f. Zellforschg., Bd. VIII, 1912, S. 121 ff. Bei letzterem nähere Angabe der Literatur. Dazu noch N. WALKER, Ann. of Bot., Bd. XXVII, 1913, S. 115 ff.; W. WOODBURN, Ebenda, Bd. XXIX, 1915, S. 441 ff. und CH. E. ALLEN, Ebenda, Bd. XXXI, 1917, S. 269 ff. S. a. A. A. SAPĚHIN, l. c. 1915. Über chemotakt. wirksame Reizstoffe bei Laubmoos-Spermatozoiden s. S. 560 dieses Praktikums.

des Stämmchens fortsetzt. Daher auch die für Polytrichum charakteristische spätere Durchwachsung der Antheridienstände. Die Antheridien haben den nämlichen Bau wie bei Mnium. Die Paraphysen, in ihrem unteren Teil einen langen Zellfaden bildend, erweitern sich an ihrer Spitze meist zu einer spatelförmigen, einschichtigen Zellfläche. Drückt man einen Antheridienstand von Polytrichum etwas zwischen den Fingern zusammen, so tritt der Inhalt der Antheridien als milchiger, auf dem rotbraunen Grund deutlich sichtbarer Schleim hervor.

Die Archegonienstände von Mnium hornum sind durchaus nicht so auffallend wie die Antheridienstände; oft hat man länger nach ihnen zu suchen. Die weiblichen Pflänzchen haben etwas dunkleres Laub und weit geringere Höhe als die männlichen. Die oberen Blätter schließen knospenförmig zusammen, um die weiblichen Geschlechtsorgane, die Archegonien, zu schützen. Wie der mediane Längsschnitt zeigt, ist der Scheitel der Sproßachse zwar nicht wesentlich erweitert, doch stark abgestumpft und hieraus können wir bereits entnehmen, daß wir es mit einem weiblichen Stand zu tun haben, auch wenn es uns nicht sogleich gelingt, die Archegonien ausfindig zu machen. Das zentrale Leitbündel des Stämmchens ist unter dem Archegonienstand etwas angeschwollen, zeigt hier ähnlichen Bau wie unter dem Antheridienstand und schließt, wie dort, in chlorophyllhaltigem Gewebe ab. Die Hüllblätter, die das weibliche Perigon (man hat es auch Perigynium, jenes hermaphroditer Blüten Perigamium, schließlich auch allgemein Perichaetium genannt) bilden, nehmen, laubblattartig bleibend, nach der Mitte des Standes hin an Größe ab; nur der Scheitel des Sprosses wird von Archegonien eingenommen, und da es nur wenige sind, so ist der Schnitt genau median zu führen, um sie zu treffen. Die Archegonien sind in der Hauptsache ebenso wie jene der Lebermoose gebaut, doch ist ihr Fußteil viel stärker entwickelt, nur wenig nach unten verschmälert und bildet die Hauptmasse an der unteren Hälfte des Archegoniums. Das Ei erscheint aus diesem Grund relativ klein. Man muß es dicht unter dem Beginn des Halses suchen, der hier nur wenig schmäler als der Bauchteil sich zeigt. Der Chlorophyllgehalt der Zellen macht das Archegonium wenig durchscheinend, daher werden das Ei und die Kanalzellen des Halses meist erst nach Zusatz von Kalilauge sichtbar. In den Achseln der Hüllblätter stehen zahlreiche Paraphysen von geringer Höhe. Sie bestehen aus einer Reihe kurzer, nach oben zu etwas anschwellender Zellen. Die untersten Zellen dieser Paraphysen sind öfters braun geworden.

Wir schließen hier das Studium des Sporogons bei Mnium hornum an. Es zeigt, ebenso wie die Sporogone anderer Bryineen, also der höchst entwickelten Laubmoose, eine Gliederung in Kapsel und Stiel (Seta) (Fig. 214 *A*). Mit dem Grund des Stiels ist es in das Gewebe der Mutterpflanze eingesenkt. Die „Haube“ (Kalyptra)[1]), welche die jugendliche Kapsel deckt, wird bei diesem Laubmoos frühzeitig abgeworfen, so daß es meist schwer hält, sie zu finden.

[1]) Betr. die Haube der Laubmoose vgl. P. JANZEN, Hedwigia, Bd. LVIII, 1916, S. 156 ff. Über ihre Entstehung s. K. GOEBEL, Organographie d. Pfl., 2. Aufl., II. T., 1915—18, S. 852.

Sie ist einseitig bis auf ihren verschmälerten Scheitel hin aufgeschlitzt, von einer, z. T. auch zwei Schichten gestreckter Zellen gebildet. Ihr verschmälerter Scheitel endet in einer gebräunten Spitze, die dem Archegoniumhals entspricht. An ihrer Basis, da, wo sie durch das wachsende Sporogon losgesprengt wurde, erscheint sie wie abgeschnitten. Den Scheitel der von der Kalyptra entblößten Kapsel nimmt der mit ganz kurzem Schnabel versehene Deckel (*A*. *d*) ein. Mit einer Nadel läßt dieser sich leicht ablösen, worauf der mit Zähnen besetzte Rand der Kapselurne (*A*, *p*) zum Vorschein kommt. Diese Zähne bilden das Peristom oder den Mundbesatz. Der obere, in die Kapsel übergehende Teil des Stiels heißt die Apophyse (*A*, *ap*). Im vorliegenden Fall ist sie durch eine nur ganz schwache Einschnürung von der Kapsel abgesetzt, zeichnet sich aber von ihr durch ihre braune

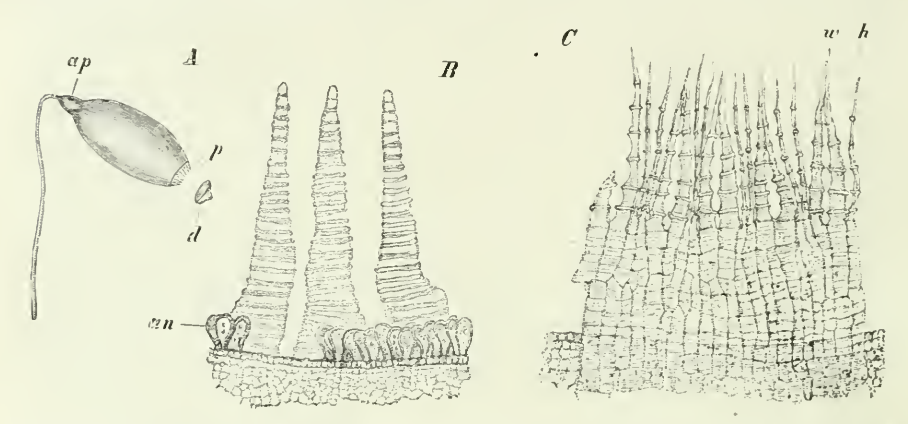


Fig. 214. Sporogon von Mnium hornum. *A* Kapsel und ein Stück der Seta, etwa 4 mal vergrößert; *d* abgesprengter Deckel; *p* Peristom; *ap* Apophyse. *B* Zähne des Urnenrandes; *an* Ring. *C* Wimpern des Urnenrandes. *w* die breiteren, *h* die schmäleren Wimpern. *B* von außen. *C* von innen gesehen. *B* und *C* 60 mal vergrößert.

Färbung aus. Bei einigen Laubmoosen, so den Splachnaceen, wird die Apophyse weit mächtiger als die Kapsel. Um uns zunächst über den Bau des Peristoms zu orientieren, führen wir einen Schnitt quer durch die Kapsel, dicht unter dem Urnenrand aus, heben das Präparat ab und übertragen es, mit seinen Zähnen nach oben gekehrt, auf den Objektträger. Den Mikroskopspiegel stellen wir senkrecht und betrachten das Bild bei auffallendem Licht. Hierbei können wir nur schwache Vergrößerungen anwenden. So erkennen wir, daß die Zähne am Innenrand der Urne eingefügt, daß sie keilförmig zugespitzt und quergestreift sind. Hauchen wir während der Beobachtung das Objekt leise an, so sehen wir die Zähne nach innen zusammenneigen. Sie sind hygroskopisch, krümmen sich bei feuchtem Wetter nach innen und verschließen so die offene Kapsel, während sie bei trockenem Wetter sich nach außen biegen, die Kapsel wieder öffnen und so ein allmähliches Ausstreuen der Sporen aus der Kapsel bewirken[1]). Wir zählen 16 Zähne an der Urne. Dann legen wir den Schnitt in einen Wassertropfen, und reißen ihn mit den Nadeln einseitig auf,

[1]) Vgl. dazu auch K. GOEBEL, Flora, Bd. LXXX, 1895, S. 459.

breiten ihn hierauf flach aus, bedecken mit einem Deckglas und sehen ihn bei durchfallendem Licht zunächst von seiner Außenseite an (*B*). Da fällt uns außer den Zähnen am Urnenrand eine doppelte Lage geneigt gestellter, papillenartig verlängerter, ziemlich stark verdickter, reichlich Chlorophyllkörner führender Zellen auf (*B*, *an*). Diese Zellen haben farblose, nur an ihrer Basis gebräunte Wände; sie lösen sich leicht von dem braunen Urnenrand ab. An diesen Zellen erfolgt die Trennung des Deckels; sie bilden den sog. Ring (Annulus) am Urnenrand[1]). Wird das Präparat jetzt so umgewendet, daß es dem Beobachter seine Innenseite zukehrt, so läßt es leicht erkennen, daß die zuvor schon von uns wahrgenommenen Querstreifen an den Zähnen Leisten sind, die an ihrer Innenfläche vorspringen. Außer dem äußeren, von den Zähnen gebildeten Mundbesatz ist aber noch ein innerer vorhanden, auf den wir jetzt hinabblicken (*C*); er wird aus den sog. Wimpern gebildet. Mnium hornum besitzt somit einen doppelten Mundbesatz, während es auch Bryineen mit nur einem, auch solche ohne ein Peristom gibt. Auch die Wimpern von Mnium hornum sind flache Lamellen, die durch schwache, aus ihrer Innenfläche vorspringende Leisten, in ihren unteren Teilen gekammert, in den oberen quer gestreift erscheinen. Abwärts sind sie zu einer kontinuierlichen Haut verschmolzen, die sich zwischen je 2 Zähne des äußeren Mundbesatzes etwas vorwölbt. Je 2 Wimpern (*C*, *w*) dieses inneren Besatzes stehen zwischen 2 Zähnen des äußeren und zeigen dort schräg ihre Kanten. Mit diesen Wimperpaaren wechseln sehr schmale ab (*C*, *h*), die etwa zu 3 vor den Zähnen des äußeren Mundbesatzes stehen. — Ein etwas tiefer durch die Kapsel geführter zarter Querschnitt zeigt im Innern das aus großzelligem Gewebe gebildete Säulchen, die sog. Columella. Im Umkreis dieser Columella liegt der mit Sporen gefüllte Hohlraum, der sog. Sporenraum. Seine innere Wand wird von der Columella selbst gebildet, die äußere von einer chlorophyllhaltigen, vorwiegend zweischichtigen Gewebelage, die durch ein lockeres, chlorophyllhaltiges Gewebe von der Kapselwand getrennt sich zeigt. Die Kapselwand ist zwei- bis dreischichtig; sie wird von einer scharf abgesetzten Epidermis überzogen, deren Zellen einseitig, und zwar nach außen, stärker verdickt sind. — Die Sporen enthalten Chlorophyllkörner, ihre Wand ist bräunlich und mit feinen Wärzchen besetzt; in günstigen Fällen läßt sich erkennen, daß die Sporen an einer Seite dreiflächig-pyramidal zugespitzt sind, was von der Lagerung der Sporen bei ihrer Bildung innerhalb der Mutterzelle herrührt. In jeder Mutterzelle werden nämlich 4 Sporen in tetraëdrischer Anordnung angelegt; bei ihrer weiteren Ausbreitung flachen sie sich an jeder ihrer Berührungsstellen dreiseitig ab. Auf feuchtem Lehm, Torf oder auf Ziegelsteinen, deren unterer Teil in Wasser taucht, lassen sich die meisten Moossporen auch bei Lichtabschluß leicht zur Keimung und Weiterentwicklung bringen; desgleichen auf künstlichen, anorganischen und organischen Nährlösungen bzw. Agar-Mischungen[2]). — Um die gewonnenen Eindrücke zu vervollständigen, betrachten wir

---

[1]) Näheres üb. d. Annulus bei H. Dihm, Flora, Bd. LXXIX, 1894, S. 286.

[2]) S. u. a. O. Treboux, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXIII, 1905. S. 397; ferner A. Laage, Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. XXI, 1. Abt., 1907, S. 76 ff. Vgl. auch Reg. IV Moose (Nährlösungen und Nähragar für Mooskultur).

auch noch Schnitte von der Oberfläche der Kapsel und der Apophyse. Da stellen wir fest, daß die Apophyse Spaltöffnungen führt, die in ihrem Bau mit den Spaltöffnungen der Gefäßpflanzen im wesentlichen übereinstimmen; sie gehen bei einigen Arten auch auf die Kapsel über[1]). Dieses Verhalten ist um so auffälliger, als allen übrigen Teilen der Laubmoose solche oder ähnliche Spaltöffnungen fehlen. Untersuchen wir die Flächenschnitte von außen, so sehen wir nur die Kanäle, die auf die Spaltöffnungen führen. Kehren wir die Schnitte um und betrachten sie von innen, so können wir in günstigen Fällen die wie bei höheren Pflanzen gebildeten beiden Schließzellen der Spaltöffnungen unterscheiden. An solchen Schnitten erkennen wir zugleich, daß die grünen Zellen zwischen Kapselwand und Sporensack in der Längsrichtung miteinander verbunden sind, daß sie sich verzweigen und ganz so wie Algenfäden aussehen. Auch auf Querschnitten durch die Apophyse wird man meist die Spaltöffnungen treffen und deren beide Schließzellen unschwer erkennen. An der Seta hört die Abgrenzung der Epidermis auf; die Oberfläche wird von 2—3 Schichten gelb- bis rotbrauner, stark verdickter Zellen eingenommen, deren Lumina nach innen zu allmählich größer werden. Im Innern der Seta ist ein zentrales Leitbündel differenziert.

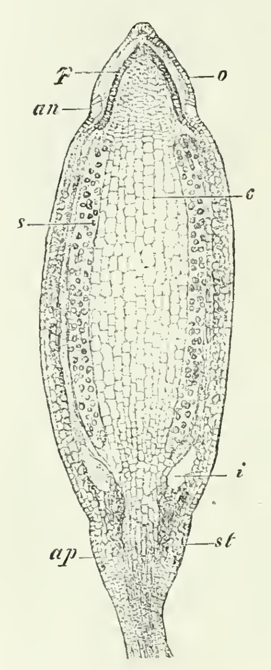


Fig. 215. Medianer Längsschnitt durch ein halbreifes Sporogon von Mnium hornum. *o* Deckel, *p* Mundbesatz, *an* Ring, *c* Columella, *s* Sporensack mit Sporen, *i* ringförmiger Hohlraum, *ap* Apophyse, *st* Spaltöffnung. Vergr. 18.

Ein genau medianer Längsschnitt, den wir durch eine noch grüne, mit Deckel versehene, doch bereits fertig ausgebildete Kapsel (Fig. 215) führen, zeigt uns zu oberst den Deckel (*o*), der außen eine Schicht brauner, stark verdickter Zellen führt und mehrere Schichten dünnwandiger Zellen nach dem Innern zu aufweist. An der Grenze zwischen Deckel und Urne liegt die doppelte Lage der uns schon bekannten, schräggestellten, papillenartig verlängerten, reichlich Chlorophyllkörner führenden Zellen (*an*), an denen die Lostrennung des Deckels erfolgt. Die braunen, nach unten zu angrenzenden Zellen der Urne zeichnen sich durch ihre geringe Höhe aus. Auf diese kleinen Zellen folgen nach innen zu ähnliche und bilden so eine Leiste aus verdickten, braungefärbten Zellen, an welche die Zähne (*p*) des äußeren Mundbesatzes ansetzen. Um eine Zelldicke entfernt, entspringen die Wimpern.

Der Deckel ist hohl, da nach Anlage der Zähne und Wimpern das Gewebe in seinem Innern schrumpfte und sich von der Innenfläche der

[1]) Vgl. im übrigen G. HABERLANDT, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XVII, 1886, S. 461 ff.; ferner die Zusammenstellung bei O. PORSCH, Der Spaltöffnungsapparat im Lichte der Phylogenie. Jena 1905, S. 33 ff.; K. GOEBEL, l. c., 1915—18, S. 861 ff.; schließlich F. v. WETTSTEIN, Österr. bot. Zeitschr., Bd. LXX, 1921, S. 69 ff. Auch für die Haube (bei Encalypta ciliata) wurden solche angegeben, aber als Mißbildungen gedeutet. P. JANZEN, l. c. 1916, S. 263.

Wimpern, die bis in die Spitze des Deckels reichen, trennte. Dieses Gewebe bildet an der Columella nur noch einen kegelförmigen Vorsprung. Die Columella (*c*) ist ihrer ganzen Länge nach zu sehen; so überschauen wir auch den Sporensack (*s*), seine äußere Wandung, das lockere Gewebe, das zwischen ihr und der Kapselwandung liegt, endlich auch letztere. Der Sporensack ist, solange der Deckel nicht abgeworfen wurde, nach oben durch eine schmale Gewebeschicht abgeschlossen, die später aufreißt. Am Grund der Kapsel, unter dem Sporensack, hat sich ein ringförmiger Hohlraum (*i*) ausgebildet. An der Apophyse (*ap*) liegen, etwas eingesenkt, die Spaltöffnungen (*st*). Je ein Kanal führt zu ihnen hin; eine Atemhöhle folgt nach innen. Sie ist von chlorophyllhaltigem Gewebe umgeben, dessen Interzellularräume mit dem ringförmigen Hohlraum unter dem Sporensack und mit den Interzellularräumen des ganzen chlorophyllhaltigen, die Kapselwand von dem Sporensack trennenden Gewebes in Verbindung stehen. Es liegt hier mit einem Wort ein Assimilationssystem vor, welches das Sporogon befähigt, bis zu einem gewissen Maß für seine Ernährung zu sorgen. Alle Spaltöffnungen sind longitudinal gerichtet, so daß sie der Längsschnitt der Länge nach trifft.

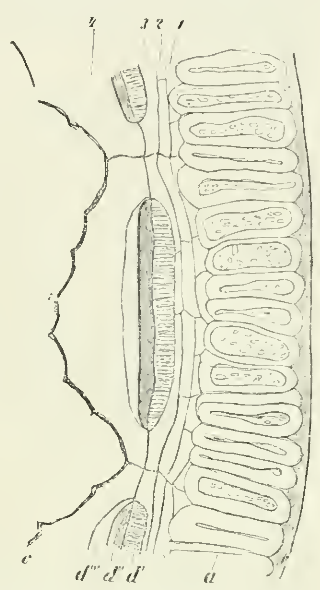


Fig. 216. Partie eines Querschnittes in der Höhe des Rings am Urnenrand von Mnium hornum. *a* Zellen des Rings, 1—4 aufeinanderfolgende Zellschichten, *d'* die in der dritten, *d''* die in der vierten Zellschicht entstandene Verdickungsmasse der Zähne, *d'''* vorspringende Querleisten, *c* verschmolzene Wimpern. Vergr. 240.

Ohne die Entwicklungsgeschichte des so eigenartigen Mundbesatzes der Mniumkapsel zu verfolgen, können wir einen Einblick in dessen Ursprung gewinnen, wenn wir uns entsprechende Querschnitte aus seiner Ansatzstelle herstellen. Wir nehmen eine noch grüne, mit Deckel versehene, doch schon in allen Teilen differenzierte Kapsel und führen, vom Deckel beginnend, so lange aufeinanderfolgende, möglichst zarte Schnitte aus, bis wir uns unter dem Urnenrand befinden. Durchmustern wir hierauf die Schnitte, so müssen wir unter ihnen auch die uns erwünschten finden. Der Schnitt, der den Ring traf (Fig. 216), zeigt uns dessen chlorophyllhaltige, radialgestreckte Zellen. Auf sie folgen meist 3 Schichten sehr flacher, dünnwandiger Zellen (1—3), die sich dadurch auszeichnen, daß jede nächstinnere 2mal breiter als die äußere ist. Das gilt auch für die 4. Schicht, die außerdem einen weit bedeutenderen, radialen Durchmesser aufweist. Die den Zellen der 4. und der 3. Schicht gemeinsamen Wände sind sehr stark verdickt und zwar nicht in ihrer ganzen Ausdehnung, vielmehr so, daß zu beiden Seiten der Verdickung je ein Stück unverdickter Wand zurückblieb. Ist der Querschnitt zart genug, so läßt sich unschwer erkennen, daß der Zahn aus zwei verschiedenen Verdickungsmassen besteht: die der Zelle der 4. Schicht angehörige (*d''*) ist homogen und gelb gefärbt, die in den 2 Zellen der 3. Schicht entstandene (*d'*) blaugrün und von sehr zahlreichen Kanälchen durchsetzt. In die Zelle

der 4. Schicht kann auch noch eine hellere gelbe Verdickungsmasse (d''') vorspringen, die einer queren Scheidewand, welche der Schnitt streifte, angehört. Die Innenwand (c) der 4. Zellschicht ist braun gefärbt und mit schwachen Vorsprüngen versehen; sie stellt den unteren Teil der seitlich verschmolzenen Wimpern vor. Alle die unverdickten Teile der angeführten Zellschichten werden später zerrissen und so die Zähne voneinander und von den Wimpern getrennt. Von der Innenseite der Wimpern war das Gewebe auf dem vorliegenden Entwicklungszustand bereits getrennt. Der nächstfolgende Querschnitt trifft die Leiste aus gebräunten Zellen, der die Zähne ansitzen und an der sie befestigt bleiben, wenn die dünnwandigen Gewebe reißen.

Eigentümlich verhalten sich die Spaltöffnungen an der Apophyse des Sporogons von Funaria hygrometrica, und es wäre von Interesse, einen Blick auf sie zu werfen. Betrachten wir den Oberflächenschnitt einer fertigen Apophyse, so muß uns nämlich auffallen, daß die Scheidewände, welche die Schließzellen der Spaltöffnungen trennen, unvollständig sind. Sie trennen die beiden Schließzellen nur in der Mitte, ohne deren Enden zu erreichen, so daß die Schließzellen an jenen Enden miteinander in Verbindung stehen[1]). Die Trennungswand ist somit auf jenen Teil beschränkt, der die Spalte in sich faßt. Jüngere Zustände lehren, daß dieser ungewohnte Zustand sich erst bei der Reife durch teilweise Resorption der zunächst vollständig angelegten Scheidewand an ihren sich nicht verdickenden Rändern ausbildet; dementsprechend sind auch 2 Zellkerne in normaler Verteilung in dem Spaltöffnungsapparat zu sehen. An älteren Kapseln erscheinen die einen fast kreisförmigen Schlauch darstellenden Schließzellen durch Verdickung der von ihnen ausstrahlenden, anstoßenden Zellwände sternförmig. Das tritt besonders schön an sorgfältig gereinigten Partien der betreffenden Wandteile hervor, die man in wässr. Methylenblau-Lösung legte; die Spaltöffnungen heben sich dann als goldgelbe Sterne vom dunkelblauen umgebenden Maschenwerk scharf ab[2]).

[1]) W. Ph. Schimper, Recherches anat. et morph. sur les mousses, 1848, S. 65; G. Haberlandt, l. c. 1886, S. 462.

[2]) P. Janzen, Schriften d. naturf. Ges. Danzig, N. F., Bd. XII, 1909, H. 3, S. 36.

XXVI. Abschnitt.

Fortpflanzung der Pteridophyten. Sporangien. Prothallien. Geschlechtsorgane.

Fixierung und Färbung der Farnspermatozoiden. Dunkelfeldbeleuchtung. Befruchtungsvorgang bei Farnen.

Untersuchungsmaterial.

Sporentragende Blätter von Scolopendrium vulgare und Dryopteris (Aspidium) Filix mas, frisch oder in Alkohol. Polypodium vulgare, Prothallien mit Geschlechtsorganen, frisch.

Ceratopteris thalictroides, Prothallien mit Geschlechtsorganen. Equisetum limosum, fruktifizierend. Lycopodium Selago, fruktifizierend, oder Lycopodium clavatum. Selaginella Martensii, fruktifizierend. Salvinia natans, fruktifizierend. Die Prothallien frisch, die anderen Objekte frisch oder Alkoholmaterial, von Selaginella unter Umständen aufgeweichtes Herbarmaterial.

Wichtigste Einschlußmedien, Reagentien.

10-proz. Lösung von Gummi arabicum. — Konz. Glyzerin. — Jodjodkaliumlösung. — Kalilauge.

Die Sporangien der Farne stehen, von seltenen Ausnahmen abgesehen, auf der Unterseite der Blätter. Sie bilden meist Gruppen, die als Sori bezeichnet werden. Häufig wird der ganze Sorus von einer Wucherung des Blattes, dem Indusium, bedeckt. Das Indusium kann sehr verschieden entwickelt sein. Schlägt sich der Blattrand über den Sorus um, so sprechen wir von falschen Indusien. — Als Beispiel für die Untersuchung wählen wir die Hirschzunge, Scolopendrium vulgare. Das Blatt wird von einem starken Mittelnerv durchzogen; von diesem entspringen nur wenig nach vorn geneigte, schwache Seitennerven. In der oberen Hälfte des fertilen Blattes werden die Sori gebildet. Sie halten gleiche Richtung mit den Seitennerven ein. Nach außen erscheinen sie, mehr oder weniger vollständig, von zwei übereinandergreifenden, später klaffenden, lippenförmig entwickelten Indusien bedeckt. — Es kommt nun darauf an, einen zarten Querschnitt durch einen fertilen Blattabschnitt herzustellen. Wir wählen zu diesem Zweck ein Blatt aus, an dem die Sori sich bereits bräunen, aber die Indusienränder noch nicht klaffen. Mit der Schere schneiden wir einen schmalen, dem Sorus parellelen Streifen aus dem Blattgewebe heraus, klemmen ihn zwischen Holundermark ein und führen zarte Querschnitte aus. Der Querschnitt durch das Blattgewebe (Fig. 217 *A*) zeigt uns eine Epidermis an der Ober- und Unterseite und Schwammparenchym, das unter der Epidermis der Oberseite dichter zusammenschließt. Der scheinbar einfache Sorusstreifen zeigt sich jetzt in 2 Streifen zerlegt. Diese stehen rechts und links, einander zugeneigt, dicht

über je einem kleinen Leitbündel. Die Blattfläche ist an den betreffenden Stellen rinnenförmig vertieft und springt zwischen den beiden Sori in einer Kante vor. Die Epidermis setzt sich dort in das Indusium (*i*) fort. Dieses hat den Bau der benachbarten Epidermis, nur daß ihm die Spaltöffnungen und im Innern der Zellen evtl. Chlorophyllkörner fehlen. Deren Stelle nehmen kleine, farblose Chromatophoren ein. Dem Grund der Rinne entspringen die Sporangien (*sg*); man trifft sie in verschiedenen Entwicklungszuständen an; sie nehmen

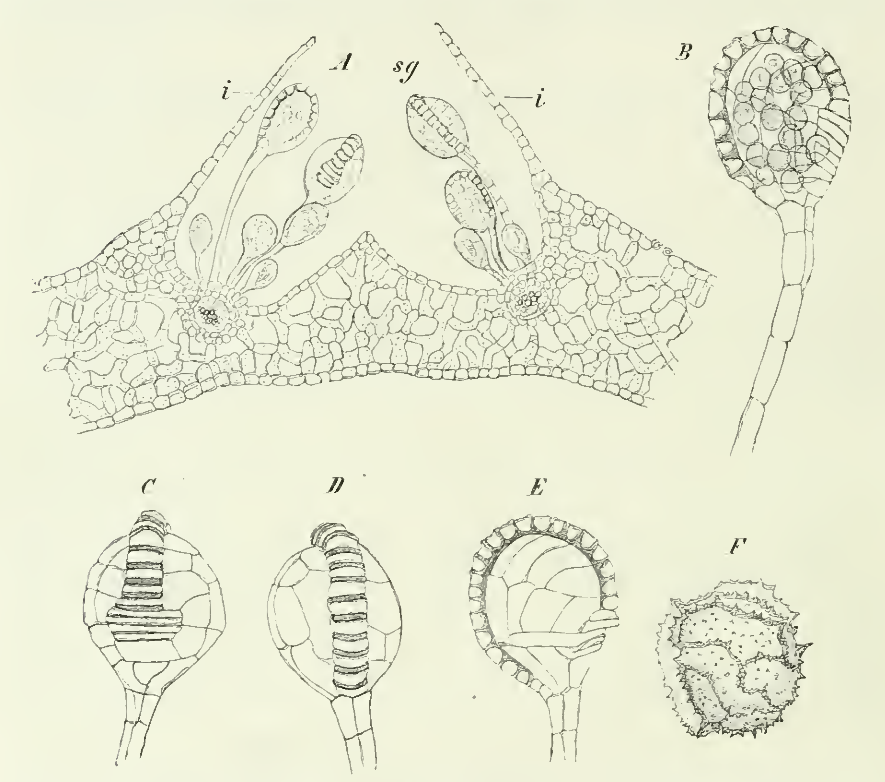


Fig. 217. Scolopendrium vulgare. *A* Querschnitt durch den fertilen Blatteil; *i* Indusium; *sg* Sporangium. *B—E* Sporangien; *B* und *E* von den Flanken, *D* von der Rücken-, *C* von der Bauchseite gesehen; *F* eine Spore. *A* 50, *B—E* 145, *F* 540 mal vergrößert.

aus je einer Epidermiszelle ihren Ursprung. Schon bei schwacher Vergrößerung (*A*) unterscheiden wir an jedem Sporangium einen Stiel und eine Kapsel; an älteren Sporangien ist an der Kapsel ein gelbbrauner Ring (Annulus) zu bemerken. Für das weitere Studium wenden wir etwas stärkere Vergrößerungen an (*B*). Der Sporangiumstiel geht aus einer einfachen in eine doppelte Zellreihe über. Die Kapsel weist eine einschichtige Wandung auf. Wie die verschiedenen Ansichten der Kapselwand zeigen (*B—E*), wird der Ring von einer nach außen vorspringenden Zellreihe aufgebaut. Diese Reihe beginnt am Stiel, setzt sich am Rücken und über den Scheitel der Kapsel fort, flacht sich an der entgegengesetzten Seite ab, wird dort zugleich breiter

und erlischt, ohne den Stiel zu erreichen. Die Innen- und die Transversalwände des Ringes sind stark verdickt und gebräunt; die Verdickung nimmt an den Transversalwänden nach außen ab und fehlt ganz an der Außenwandung. Die Verdickungsleisten haben somit U-förmige Gestalt. Das Sporangium öffnet sich zwischen den breiten Zellen, in denen der Ring endet (Fig. 217 *C*, *E*); die eine Hälfte dieser breiten Zellen kommt auf die eine, die andere auf die entgegengesetzte Seite der Querspalte zu liegen. Die Ursache des Aufspringens liegt in dem Ring, der beim Austrocknen seine Krümmung zu verringern sucht (s. unten). — Die braune Wandung der reifen Spore zeigt sich auf ihrer Außenfläche mit netzförmig verbundenen, hahnenkammartig vorspringenden Leisten besetzt (*F*).

Bei dem Wurmfarn, D r y o p t e r i s (Aspidium) F i l i x m a s, finden wir herznierenförmige Indusien, die mit dem Alter bleifarbig, zuletzt bräunlich werden, etwas schrumpfen und dann die dunkelbraunen Sori nicht mehr vollständig decken. Die Sporangien haben fast denselben Bau wie bei Scolopendrium. An einzelnen von ihnen sieht man aus dem Stiel ein kurzes, mit einem einzelligen Köpfchen endendes Drüsenhaar entspringen. Die Sporangien sind auf einer polsterartigen Erhebung, einer Placenta, die über einem Leitbündel liegt, befestigt. An letzteres setzen netzförmig verdickte Tracheïden an, die sich in der Placenta verbreiten. An ihrem Scheitel trägt die Placenta das mit einer stielförmigen Erweiterung befestigte Indusium.

Fügen wir einem Präparat, das reife, doch noch geschlossene Sporangien enthält und in Wasser liegt, vom Deckglasrand aus eine wasserentziehende Flüssigkeit, am besten Glyzerin, hinzu, so öffnen sich die Sporangien langsam unter unseren Augen. Dabei wird der Ring schließlich stark konkav. Dann folgt mit einem Ruck eine entgegengesetzte Bewegung, die das Sporangium wieder mehr oder weniger vollständig schließt. Die ganze Erscheinung kann sich in geschwächtem Maße hierauf noch einmal oder selbst mehrmals wiederholen. Genaue Beobachtung lehrt, daß während des Öffnens die Außenwände des Ringes sich stark in dessen Zellen hineinwölben. Das wird durch den fortgesetzten Wasserverlust bewirkt, den die Ringzellen erleiden. Damit werden auch die Schenkel der U-förmigen Verdickungsleisten einander elastisch genähert. Schließlich vermag die Kohäsion des Wassers in den Zellen dem ihr entgegenwirkenden Zug nicht mehr zu widerstehen. Das Füllwasser reißt plötzlich vor der Wand ab, wobei ein luftleerer Raum entsteht und die Ringzellen ihre ursprüngliche Gestalt wieder erhalten. Mit diesem Augenblick fällt die Rückbewegung des Ringes zusammen[1]). Ist nicht in allen Zellen der Riß entstanden, so hält in jenen, wo dies nicht geschah, die Auswärtskrümmung noch an; das veranlaßt die sekundären Öffnungsbewegungen. Ersetzt man das Glyzerin nunmehr durch Wasser, so dringt wieder Wasser in die Ringzellen ein und das Sporangium schließt

[1]) C. STEINBRINCK, vornehmlich in Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XV, 1897, u. Bd. XXII, 1904; dann Biol. Zentralbl., Bd. XXVI, 1906, S. 673 und Monatsh. f. naturw. Unterr., Bd. XI, 1918. A. URSPRUNG, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXVIII, 1903, S. 65; Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXII, 1904, S. 73 u. Bd. XXXIII, 1915, S. 153; s. a. Ebenda, S. 253 ff.; ferner O. RENNER, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LVI, 1915, S. 647.

sich fast vollständig. Durch erneuten Zusatz von Glyzerin kann die umgekehrte Erscheinung nochmals hervorgerufen werden. Öffnen sich die Sporangien an der Luft, so dringt in dem Augenblick, wo die Kohäsion des Wassers in den Ringzellen überwunden wird, Luft in sie ein.

Wir wählen die Farnkräuter ebenfalls aus, um den Bau der Geschlechtsorgane in der Gruppe der Gefäßkryptogamen kennenzulernen, womöglich auch den Vorgang der Befruchtung zu verfolgen. Das Prothallium, die geschlechtliche Generation der Farne, ist stets leicht zu beschaffen. Im Freien ist das Auffinden von Prothallien zwar mit Schwierigkeiten verbunden, doch in Gewächshäusern fehlen sie fast niemals. An feuchten, schattigen Wänden, an den Stämmen von Baumfarnen, auf Blumentöpfen sind Prothallien fast immer zu entdecken. Auf der zur Kultur von Orchideen, Sarracenien usw. vielfach verwandten, von Polypodium vulgare-Wurzeln durchsetzten humösen Erde finden sich meist zahlreiche Prothallien vom Engelsüß, P o l y p o d i u m v u l g a r e , die wir hier zur näheren Betrachtung auswählen[1]). Wie bei den meisten andern Polypodiaceen haben auch bei Polypodium vulgare die Prothallien die Gestalt kleiner, dem Substrat angeschmiegter, herzförmiger, lebhaft grüner Blättchen. Wir fassen ein Prothallium mittlerer Größe mit der Pinzette, und zwar an der Stelle, wo es an dem Substrat befestigt ist, und heben es von diesem ab. Wir tauchen es in Wasser, bewegen es in ihm einigemal hin und her, um die anhaftenden Bodenteilchen abzuspülen, legen es nun, mit der Bauchseite nach oben, in einen Wassertropfen auf den Objektträger und beobachten es unter Deckglas. Das Prothallium besteht aus polygonalen, zahlreiche Chlorophyllkörner führenden Zellen. In der vorderen Einbuchtung liegt das kleinzellige Meristem des Vegetationspunktes. Nur in seiner Mediane ist das Prothallium, wie sich leicht durch Verändern der Einstellung feststellen läßt, mehrschichtig. Dieser mediane Teil bildet das sog. Gewebepolster, das an den Seiten in den einschichtigen Thallus übergeht und sich auch nach der Basis des Prothalliums zu allmählich abflacht. Aus den hinteren Teilen des Prothalliums entspringen die Rhizoiden; sie werden vornehmlich in der Mediane des Prothalliums erzeugt. Es sind lange, einzellige, sich alsbald bräunende Schläuche. An dem Rand und der Unterseite des Prothalliums wachsen einzelne Zellen außerdem zu kurzen, fast ausnahmslos einzelligen Papillen aus, die wie die Rhizoiden durch eine Scheidewand an ihrem Grund abgetrennt werden. Haben wir relativ junge Prothallien zur Untersuchung gewählt, so zeigen sie nur männliche, haben wir zu alte genommen, so finden sich ausschließlich weibliche Geschlechtsorgane. Zwischen beiden, dem Alter nach, stehen solche, welche beide Geschlechter vereinigen. Die Geschlechtsorgane werden wie die Rhizoiden nur an der Bauchseite des Prothalliums erzeugt[2]). Die männlichen Geschlechtsorgane (An-

[1]) Näh. Angaben üb. d. Kulturbedingungen bei G. PERRIN, Recherches sur les prothalles des Polypodiacées. Thèse Fac. des Sc., Paris, 1908. S. a. Reg. IV Farnsporen.

[2]) Über die Abhängigkeit der Geschlechtsorganbildung versch. Farne von der Ernährung vgl. ISABURO-NAGAI, Flora, Bd. CVI, 1914, S. 281 ff. und Journ. Coll. Agr. imp. Univ. Tokyo, Bd. VI, 1915, S. 121ff; vgl. dazu auch A. Th. CZAJA, Zeitschr. f. Bot., Bd. XIII, 1921, S. 545 ff.

theridien) halten sich an die hinteren Teile des Prothalliums. Sie entspringen zwischen den Rhizoiden, aber auch weiter seitlich, außerhalb dieser. Ihre Bildung schreitet scheitelwärts fort. Sie erscheinen als kugelig vorgewölbte Gebilde (Fig. 218 *A*), die im reifen Zustand von einer einschichtigen Wand umschlossene, kleine, kugelige Zellen in größerer Anzahl führen. Jenseits der reifen Antheridien stehen bereits entleerte, die an der Bräunung ihrer Innenwände kenntlich sind und eine sternförmige Öffnung in ihrem Deckel zeigen. Vollen Einblick in den Bau der Antheridien erhalten wir nur, wenn wir sie noch von der Seite betrachten. Solche Seitenansichten sind an manchen zufällig umgebogenen Stellen des Prothalliums nicht selten zu gewinnen; wir bekommen sie auch leicht, wenn wir antheridienreiche Prothallien mit Nadeln entsprechend zusammenfalten. An richtigen Seitenansichten (Fig. 218 *A*) stellen wir nunmehr leicht fest, daß das Antheridium der Mitte einer schwach vorgewölbten Prothalliumzelle (*p*) aufsitzt und durch eine Scheidewand von ihr abgetrennt ist. Die Wand besteht fast ausnahmslos aus zwei übereinanderliegenden, scheidewandlosen Ringzellen (*1* und *2*) und einer Deckelzelle (*3*). Die Seitenansicht des entleerten Antheridiums (Fig. 218 *B*) zeigt die Ringzellen sehr stark angeschwollen; es treten diese daher noch deutlicher vor. — Hat man Prothallien zur Untersuchung gewählt, die seit längerer Zeit nicht benetzt worden sind, so dürfte man nicht lange auf die Entleerung einzelner reif gewordener Antheridien zu warten haben. Der Mechanismus der Entleerung beruht auf dem Druck, den die ringförmigen, schleimerfüllten und allmählich aufquellenden Wandzellen auf den Inhalt ausüben, wobei die ebenfalls aufquellende Deckelzelle abgesprengt wird[1]). Der Inhalt des Antheridiums tritt in Gestalt isolierter, kugeliger Zellen hervor, die zunächst kurze Zeit ruhig in dem umgebenden Wasser liegen bleiben. In jeder Zelle ist, selbst bei relativ schwacher Vergrößerung, ein zusammengerollter Faden, das Spermatozoid, und eine zentrale Ansammlung kleiner Körnchen zu erkennen. Die Wände dieser Zellen lösen sich im Wasser auf, und schon nach wenigen Sekunden beginnen sich einzelne Spermatozoiden zu befreien. Dies geschieht mit einem Ruck, wobei die Windungen des Spermatozoidkörpers auseinander treten. Ein Spermatozoid nach dem andern entweicht so. Wir verfolgen einzelne im umgebenden Wasser und stellen fest, daß sie sich relativ rasch fortbewegen und sich gleichzeitig um ihre Achse drehen. Nach etwa 20—30 Min. verlangsamt sich die Bewegung der Spermatozoiden und hört schließlich auf. Während dieser letzten Stadien der Bewegung ist die Gestalt des Spermatozoids unschwer zu erkennen. Dieses gelingt noch leichter, wenn man zu dem spermatozoidenhaltigen Wassertropfen eine 10-proz. klar abfiltrierte Lösung von Gummi arabicum hinzufügt und so die Schnelligkeit der Bewegung hemmt. Das Spermatozoid (Fig. 219) besitzt einen pfropfenzieherförmig gewundenen Körper. Die

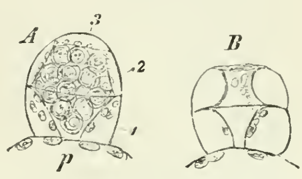


Fig. 218. Polypodium vulgare. *A* reifes, *B* entleertes Antheridium; *p* Prothalliumzelle, *1* u. *2* Ringzellen, *3* Deckelzelle. Vergr. 240.

[1]) O. SCHLUMBERGER, Flora, Bd. CII, 1911, S. 387 ff.

Windungen sind am vorderen Ende enger, werden nach hinten weiter. Die vorderen, engen Windungen tragen lange, feine Zilien. Zwischen den hinteren Windungen liegt, als unverbrauchter Rest des Plasmas der Spermatozoid-Mutterzelle, eine zarte Blase mit Körnchen im Innern, die auf Stärke reagieren.

Steht uns der ABBEsche Beleuchtungsapparat zur Verfügung, so können wir ihn anwenden, um auch hier die Wirkungen der Dunkelfeld-Beleuchtung kennen zu lernen. Wir setzen zu diesem Zweck in den Diaphragmenträger die mit einer zentralen Scheibe versehene Blende, die „Zentralblende"[1]), ein und erhalten hierdurch ein dunkles Gesichtsfeld, das besonders gut zur Wirkung kommt, wenn man Objektträger und Kondensor blasenfrei mit Wasser oder Zedernholzöl verbindet. In diesem dunklen Gesichtsfeld sehen wir die Spermatozoiden als leuchtende Gebilde herumschwärmen. Um vollkommene Effekte zu erzielen, müssen wir übrigens über der obersten Linse des Objektivs, oder zwischen Objektiv und Trichter eine kleine Blende anbringen. Nur die schwächsten Objektive sind ohne solche Blende zu benutzen. Objektive mit Korrektionsfassung lassen sich nicht verwenden. Zum gleichen Zweck kann man auch die speziell für Dunkelfeldbeleuchtung konstruierten Kondensoren (s. S. 18 u. 458) in Anwendung bringen.

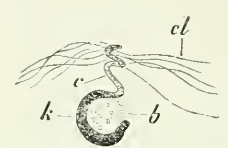


Fig. 219. Ein Farn-Spermatozoid. Der den Kern (*k*) führende Abschnitt ist in der Figur dunkler gehalten; *c* vorderer, die Zilien (*cl*) tragender Abschnitt; *b* Bläschen. Vergr. 540.

Um den Bau der Spermatozoiden näher kennen zu lernen, lassen wir eine Anzahl jüngerer Prothallien etwa 10 Min. lang in einem Wassertropfen auf dem Objektträger liegen, entfernen sie hierauf und setzen ein wenig Jojodkaliumlösung dem Tropfen zu. Die Spermatozoiden, sofern solche entleert worden sind, zeigen sich jetzt fixiert, wobei ihre Windungen sich etwas gestreckt haben. Bei starker Vergrößerung untersucht, erscheint ihr Körper als schmales, an der Außenseite vorgewölbtes Band, das nach vorn zu allmählich sich verjüngt, am hinteren Ende sich ziemlich rasch zuspitzt. Es beschreibt 2—3 volle Windungen. Die schmalen, vorderen Windungen tragen an ihrer Außenseite lange, äußerst zarte Zilien. Von der letzten Windung wird die eine Anzahl verschieden großer Körnchen enthaltende, zarte Plasmablase[2]) umfaßt. Der Körper der Spermatozoiden hat sich braungelb gefärbt. Die Körner in der hinteren Blase zeigen oft deutlich ihre Stärkenatur durch Blaufärbung. — Auch diese Spermatozoiden wird man sehr schön fixieren und färben, wenn man die Antheridien in einen Tropfen Wasser auf dem Deckglas sich entleeren läßt, den Tropfen hierauf flach ausbreitet und in der bei Marchantia geschilderten Weise (vgl. S. 542) die Spermatozoiden mit Osmiumsäuredämpfen fixiert und mit Fuchsin-Methylgrün färbt (Fig. 219). Hierbei wird ein vorderer Abschnitt (*c*) rot, dann folgt bis zum Ende des ganzen Körpers der etwas dickere, sich blau färbende Teil (*k*). Er umfaßt mit seiner Windung das sich rot färbende Bläschen (*b*). Die den vorderen, rot gefärbten Windungen des Körpers entspringenden Zilien (*cl*) zeigen rote Färbung wie jene. Auch hier entsprechen die rot gefärbten Teile den

[1]) Zentralblenden, die jedoch nur für bestimmte Kondensoren geliefert werden, sind bei *Zeiss* (Mikro 184, Nr. 11 45 00), *Leitz* (Kat. 46 D. Nr. 105) und anderen opt. Werkstätten erhältlich.

[2]) Vgl. dazu A. A. SAPĚHIN, Arch. f. Zellforschg., Bd. XIII, 1915, S. 380, 381.

zytoplasmatischen, die blau gefärbten den nuklearen Bestandteilen des Spermatozoidkörpers[1]). — Von so fixierten und gefärbten Spermatozoiden lassen sich Dauerpräparate herstellen, die jahrelang ihre Färbung behalten können[2]). Man streue zu diesem Zweck in den Tropfen, der die Spermatozoiden enthält, pulverisiertes Gummi arabicum. Die Lösung läßt man an der Luft ganz eintrocknen, worauf man ein wenig Kanadabalsam auftropft und ein Deckglas auflegt.

Durch Verwendung einer Glaubersalzlösung, die etwas Fuchsin S. enthält, gelingt es, die den Kern darstellenden, nukleïnhaltigen Teile der Spermatozoiden von den übrigen nukleïnfreien zu sondern[3]). Die Glaubersalzlösung hierzu wird aus 10 g Glaubersalz „pro analysi" von Merck und 1 ccm Eisessig auf 100 ccm Wasser hergestellt. Der den Kern führende, somit nukleïnhaltige Teil der Farnspermatozoiden quillt und bleibt ungefärbt, während eine sehr scharf begrenzte, schließlich intensiv gefärbte Hülle in die Erscheinung tritt. Die Zilien quellen nicht und färben sich gut.

Am vorderen Einschnitt des Prothalliums, auf dem medianen Gewebepolster, sieht man die weiblichen Geschlechtsorgane, die Archegonien (Fig. 220). Nächst dem Einschnitt sind sie noch unfertig, weiterhin reif, doch ungeöffnet, endlich abgestorben und geöffnet, im Innern gebräunt. Die weiblichen Geschlechtsorgane lassen sich von den männlichen sehr leicht unterscheiden. Sie ragen aus der Prothalliumfläche in Gestalt kurzer, zylindrischer, von dem vorderen Einschnitt weggekrümmter Gebilde vor. Dieser freie Teil des Archegoniums ist nur sein Halsteil, während der Bauchteil im Prothalliumgewebe sich eingesenkt findet. Am Halsteil unterscheiden wir eine einschichtige, aus 4 Zellreihen gebildete Wandung und einen zentralen Kanal, dessen Inhalt an den reifen Archegonien in den zentralen Teilen körnig, in den peripherischen stark lichtbrechend erscheint. Dieser innere Kanal, der Halskanal, erweitert sich keulenförmig nach oben; nach unten geht er in die Zentralzelle des Archegoniums über, in der sich das Ei befindet. Letzteres ist freilich kaum zu unterscheiden. Hat man die Prothallien mehrere Tage vor Beginn der Untersuchung unbenetzt gelassen, so gelingt es wohl auch, das Öffnen eines Archegoniums zu sehen. Man wähle zur anhaltenden Beobachtung ein solches Archegonium, dessen Kanalinhalt besonders stark lichtbrechend erscheint. Oft erfolgt das Öffnen fast momentan; oft gilt es auch, lange zu warten. Das Öffnen des Halses ist eine Folge des Drucks, den die stark lichtbrechende, quellbare Substanz des Halskanals auf die Wandung des Halses ausübt. Die 4 Zellen am Scheitel des Halses weichen plötzlich auseinander, und der Inhalt des Halskanals tritt hervor. Seine stark lichtbrechende Masse verteilt sich als farbloser Schleim in dem umgebenden Wasser, während seine körnigen Bestandteile sich allmählich zersetzen. Die Entleerung erfolgt mit Unterbrechung; zuerst tritt nämlich der Inhalt des Halskanals, dann jener der vom Ei zuletzt abgegrenzten Bauchkanalzelle hervor. — Unter besonders günstigen Umständen kann man nunmehr auch das Eindringen von Spermatozoiden in das Archegonium sehen.

---

[1]) E. Strasburger, Histol. Beitr., Heft IV, 1882, S. 516; vgl. im übrigen betr. für Farne geeignete Fixierung und Färbungsmethoden Reg. IV Farne.

[2]) Wl. Belajeff, Flora, Bd. LXXIX, 1894, S. 25.

[3]) E. Zacharias, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XIX, 1901, S. 379.

Man erhöht die Aussichten für diese Beobachtung, wenn man dem älteren, auf die Archegonien zu untersuchenden Prothallium einige recht junge, antheridienreiche zugesellt hat. Spermatozoiden, die zuvor schon das Präparat durchschwammen, sah man an den geschlossenen Archegonien unbeeinflußt vorbeieilen. Nach dem Halsteil eines geöffneten Archegoniums schlagen die Spermatozoiden hingegen schon aus meßbaren Entfernungen die Richtung ein und werden dort in dem entleerten Schleim aufgefangen. Innerhalb des Schleims verlangsamt sich ihre Bewegung, doch halten sie die ursprüngliche Richtung ein, dringen in den Halskanal und gelangen bis zum Ei, in das nur ein Spermatozoid aufgenommen wird. Wie sicher festgestellt wurde, scheiden die Archegonien der Farne eine Substanz aus, die als chemischer Reiz auf die Spermatozoiden einwirkt und die Richtung ihrer Bewegung bestimmt[1]). Als spezifisches Reizmittel wirkt in diesem Fall vor allem die Äpfelsäure, die mit ungefähr 0,3 % in den aus dem Archegoniumhals entleerten Stoffen vertreten ist[2]). So gelang es auch, Farnspermatozoiden in einseitig zugeschmolzene Kapillaren, die unter der Luftpumpe mit 0,01—0,1-proz. an irgendeine Base gebundener Äpfelsäure injiziert worden waren, ganz ebenso wie in einen Archegoniumhals hinein zu locken. Ähnlich, wie in solche Kapillaren, schwärmen die Spermatozoiden der Farne auch in größere Haare, am besten in jene der Blätter von Heracleum sphondylium ein, wenn man diese, mit abgeschnittener Spitze, in das spermatozoidenhaltige Wasser legt. Für die Spermatozoiden der Bärlapp-Arten ist Zitronensäure, für die der Marchantien (vgl. S. 544) Eiweiß, für die der Laubmoose Rohrzucker das spezifische Reizmittel[3]). — Es ist nachgewiesen worden[4]), daß ein einziges Spermatozoid für die Befruchtung genügt. Meist dringen aber mehrere in das Archegonium ein, doch nur eins findet, wie schon erwähnt, Aufnahme in das Ei. Wir können unschwer feststellen, daß die Spermatozoiden ihr hinteres

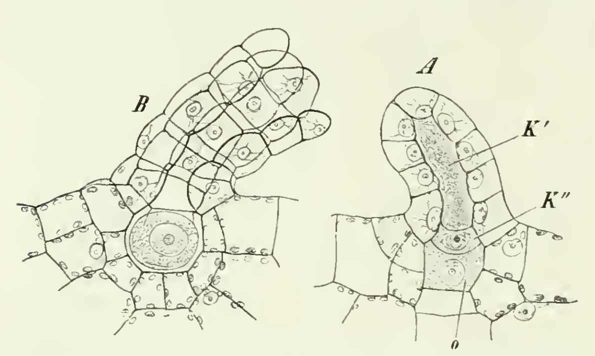


Fig. 220. Polypodium vulgare. *A* unreifes Archegonium; *K'* Halskanalzelle; *K''* Bauchkanalzelle; *o* Ei; *B* reifes, geöffnetes Archegonium. Vergr. 240.

[1]) W. Pfeffer, Unters. a. d. bot. Inst. zu Tübingen, Bd. I, 1883, S. 367 ff. Vgl. a. B. Lidforss, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLI, 1905, S. 67; ferner K. Shibata, Ebenda, Bd. IL, 1911, S. 1.

[2]) Außerdem gibt es aber noch eine ganze Reihe organischer und anorganischer Substanzen, die bei Pteridophyten-Spermatozoiden positiv chemotaktische Reaktion auslösen. Vgl. K. Shibata, l. c. 1911; dort auch die einschlägige Literatur über ähnliche Verhältnisse bei Equiseten und Hydropterideen.

[3]) Vgl. a. u. Å. Åkerman, Bot. Notiser, 1915, S. 205, dessen Angaben zufolge auch Knopsche Nährlösung eine positiv chemotaktische Wirkung auf die Laubmoos-Spermatozoiden ausübt.

[4]) E. Strasburger, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. VII, 1869—70, S. 405.

Bläschen nicht mit in das Archegonium nehmen, vielmehr, soweit sie noch mit ihm versehen ankamen, es in dem Schleim vor der Halsöffnung zurücklassen. Hin und wieder ist die Zahl der anlangenden Spermatozoiden so groß, daß sie sich zwischeneinander bohrend und fadenförmig streckend den ganzen Kanal des Archegoniums ausfüllen, ja selbst noch einen Strauß vor dessen Öffnung bilden. — Wir wollen die Archegonien auch auf Schnitten untersuchen. Diese müssen median geführt werden, da die Archegonien sich an die Mediane des Prothalliums halten. Um uns das Schneiden zu erleichtern, legen wir mehrere Prothallien, sie sorgfältig richtend, aufeinander, nachdem wir zuvor alle Sandkörner des Substrats entfernt haben. Wir finden nun auf den Schnitten bald die gewünschten Bilder. Das Archegonium ist, wie wir sehen (Fig. 220 *A* und *B*), mit seinem Bauchteil in das Prothallium eingesenkt, sein Halsteil ist gekrümmt. Halskanalzelle (*K'*) und Bauchkanalzelle (*K''*) lassen sich nunmehr unterscheiden; auch das Ei (*o*) und sein Kern ist zu erkennen. Der Bauchteil des Archegoniums ist von einer Schicht flacher Zellen umkleidet. In dem reifen, geöffneten Archegonium (*B*) kann man oben am Ei öfters eine farblose Stelle, den Empfängnisfleck, erkennen, an dem die Aufnahme des Spermatozoids erfolgt. — Einzelne weniger mediane Schnitte dürften uns auch Antheridien in der Seitenansicht vorführen.

Für die Beobachtung des Befruchtungsvorgangs sind die Prothallien von Ceratopteris thalictroides besonders geeignet. Wir erhalten sie durch Aussaat der Sporen. Diese Aussaat wollen wir auf einem Torfziegel machen. Ein Stück Torfziegel kochen wir in Wasser aus, um anhaftende Keime zu zerstören, und tränken es hierauf mit der schon früher (S. 401) benutzten Nährlösung. Es wird hierauf mit den Sporen bestreut und unter einer tubulierten Glasglocke in der Nähe eines Nordfensters aufgestellt. Die Keimung, günstige Temperaturverhältnisse[1]) vorausgesetzt, beginnt schon nach wenigen (3—5) Tagen[2]). Die Sporen von Ceratopteris thalictroides sind verhältnismäßig groß. Betrachten wir eine solche Spore bei stärkerer Vergrößerung, so sehen wir, daß sie an einer Seite dreiflächig zugeschärft, sonst kugelig ist. Ihre Haut, die Exine, ist braun und mit flachen Leisten regelmäßig besetzt. Mehrere Tage nach der Aussaat untersuchte Sporen zeigen, daß die Exine an der dreiflächig zugeschärften Seite mit drei Klappen sich geöffnet hat; eine innere, farblose Haut der Spore, die Intine, wird dort sichtbar; hierauf treten 1—2 Rhizoiden hervor, worauf sich ein konisches Wärzchen als Anfang des Prothalliums zeigt. Nach 3—4 Wochen sind die Prothallien so weit entwickelt, daß sie Geschlechtsorgane tragen. Zuerst bilden sich nur Antheridien, dann folgen die Archegonien. Im Gegensatz zu Polypodium vulgare erscheinen die Prothallien von Ceratopteris thalictroides bandartig gestreckt. Sie sind mit Rhizoiden am Substrat befestigt, die aus ihrem Rand und ihrer Bauchseite entspringen und stets, ähnlich wie wir dies weniger ausgeprägt auch bei Polypodium sahen, das hintere Ende des Prothalliums einnehmen. Die Antheridien gehen ganz vorwiegend aus Randzellen, weniger

---

[1]) Vgl. dazu G. KLEBS, Sitzber. d. Heidelberg. Ak. d. Wiss., Math.-Nat. Kl., Abt. B, 1916, 4. Abh.; ferner Ebenda, 1917, 3. u. 7. Abh.

[2]) L. KNY, Nova Acta, Bd. XXXVII, No. 4. Vgl. im übrigen Reg. IV Farnsporen.

zahlreich aus Flächenzellen hervor. Sie besitzen eine Stielzelle, eine Ringzelle und eine Deckelzelle. Die Archegonien entspringen, wie bei Polypodium, nahe dem vorderen Einschnitt, an der Bauchseite des Prothalliums. Sie zeigen auch den nämlichen Bau. Das ganze Prothallium ist relativ durchscheinend, namentlich wenn es eine Zeitlang in schwachem Licht verweilte. Bei entsprechender Einstellung läßt sich dann leicht das Ei im Bauchteil des Archegoniums erkennen[1]). Öfters ist der Prothalliumrand an der vorderen Einbuchtung etwas umgebogen, so daß sich einzelne Archegonien im optischen Durchschnitt einstellen lassen. An Prothallien, die bei geringem Wasserzutritt wuchsen, bleiben die Antheridien und die Archegonien ungeöffnet. Bei solchen gelingt es meist, den Vorgang der Befruchtung zu beobachten. Wir bringen ein jüngeres und ein älteres Prothallium in den nämlichen Wassertropfen, um Spermatozoiden und reife Archegonien beisammen zu haben. Öffnet sich ein Archegonium und sind Spermatozoiden da, so treten diese alsbald in das Archegonium ein und lassen sich bis an das Ei verfolgen. Das zuerst anlangende Spermatozoid stößt mit seinem vorderen Ende an den Empfängnisfleck und bohrt sich mit schraubenförmiger Drehung in das Ei ein. Seine Bewegung wird allmählich langsamer, nach 3—4 Min. ist es im Ei verschwunden. Man kann an entsprechend fixierten und gefärbten Präparaten feststellen, daß der Kern des Spermatozoids, der Spermakern, mit dem Kern des Eies, dem Eikern, verschmilzt[2]); am frischen Objekt läßt sich das nicht sehen. Meist dringen bei Ceratopteris nach dem ersten Spermatozoid noch andere in das Archegonium ein und stören am lebenden Objekt die Beobachtung des Vorgangs. Oft dauert es dann lange, bevor ein Spermatozoid in die erwünschte Lage kommt und sich in das Ei einbohren kann. Mehr als ein Spermatozoid wird aber auch hier nicht aufgenommen, die anderen bleiben nach längerem Schwärmen auf dem Ei liegen und werden dort allmählich resorbiert. Sie dienen so zur Ernährung des Eies, dringen aber nicht als morphologische Elemente ein. — Da eine größere Zahl eintretender Spermatozoiden die Betrachtung stört, so ist darauf zu achten, daß sich nicht zu viel Spermatozoiden in dem Beobachtungstropfen befinden. — Der Halsteil des befruchteten Archegoniums verengt sich rasch in seiner unteren Partie und beginnt sich nach 8—10 Std. zu bräunen. — Haben wir nach vollendeter Untersuchung unsere Torfkulturen wiederholt begossen, so werden wir in 8—10 Tagen leicht die ersten Stadien der Keimentwicklung in den befruchteten Archegonien sehen können. Der Archegoniumbauch erscheint kugelig angeschwollen, seine sich nach außen vorwölbende Wand ist mehrschichtig geworden, oben sitzt ihr der gebräunte und geschrumpfte Hals auf. Die aus einer größeren oder geringeren Anzahl von Zellen bestehende Anlage scheint im Innern durch. Auf späteren Zuständen wird der Archegoniumbauch gesprengt, und die Anlage des ersten Blattes tritt aus ihm hervor.

Die ährenförmigen Sporangienstände der Schachtelhalme, Equiseten[3]), nehmen den Gipfel gemeinsamer grüner oder besonderer nicht grüner Sprosse

[1]) E. Strasburger, l. c. 1869—70, S. 390.

[2]) W. R. Shaw, Ann. of Bot., Vol. XII, 1898, S. 261; Ch. Tom, Transact. of the Acad. of Science of St. Louis, Vol. IX, No. 8, 1899, S. 285. Über die Methoden vgl. Reg. IV Farne.

[3]) Vgl. K. Goebel, Organographie der Pflanzen, 2. Aufl., 1915—18, II. Teil, S. 1104 ff.

ein. Sie können als Blüten bezeichnet werden, da sie, wie die Blüten der Phanerogamen, einen in sich abgeschlossenen Sproß darstellen, der aus einer Achse und besonders gestalteten, sporangientragenden Blättern besteht. Solche Blätter werden allgemein als Sporophylle bezeichnet. Sie stehen hier in Quirlen, berühren sich gegenseitig und erscheinen polygonal, meist sechseckig. Um ihre Gestalt genauer kennenzulernen, heben wir sie zunächst mit dem Skalpell von der Achse eines reifen Sporangienstandes ab und betrachten sie trocken bei auffallendem Licht unter dem Präpariermikroskop. Dabei ist die Wahl der Spezies ziemlich gleichgültig. Wir wollen annehmen, daß uns der im Mai und Juni fruchtende Teichschachtelhalm, Equisetum limosum, zur Untersuchung vorliegt. Wir unterscheiden an jedem Sporangienträger den polygonalen Schild und den Stiel, der ihn trägt. Der Innenfläche des Schildes entspringen im Umkreis des Stiels etwa 8 sackförmige Sporangien, die, um ihre Sporen zu entleeren, auf der dem Stiel zugekehrten Seite der ganzen Länge nach aufspringen. Den inneren Bau der Sporangienträger und Sporangien sehen wir uns auf Querschnitten an, die wir durch eine nicht ganz reife Ähre führen. Entschieden günstigere Resultate werden wir hierbei mit Alkoholmaterial erlangen, das wir dann in Glyzerin untersuchen. Der Stiel des Sporangienträgers ist in der Mitte von einem Leitbündel durchzogen. An seinem Scheitel erweitert er sich zum Schild, und sein Leitbündel teilt sich schirmförmig in so viel Strahlen, als Sporangien vorhanden sind. Die Leitbündelzweige enden mit schraubenförmig verdickten Tracheïden unter der Ansatzstelle der Sporangien. Die Epidermis der Sporangien ist durch eine schöne, schrauben-, z. T. ringförmige Verdickung ihrer Zellen ausgezeichnet. Die Sporangienwand erscheint auf diese Epidermis und einige schließlich kollabierende Zellschichten reduziert. Bei ihrer Bildung liegen die Sporen in einem mit Alkohol fixierbaren, sehr stärke- und kernreichen Plasma, dem Periplasmodium, eingebettet, das aus der Verschmelzung der das sporenbildende Gewebe umgebenden Zellen, der sog. Tapetenzellen, hervorgeht und hauptsächlich bei der Ausbildung der äußeren Sporenhülle verwertet wird[1]). — Die Sporen von Equisetum limosum untersuchen wir an frischem Material. Sie sind durch ihre sofort auffallenden beiden Spiralbänder (Elateren) ausgezeichnet, die an der Stelle, wo sie an der Sporenkugel befestigt sind, eine schwache Verbreiterung zeigen, ferner erkennen lassen, daß ihre äußeren Grenzen ununterbrochen über die Ansatzstelle fortlaufen, während die inneren vor einem gemeinsamen Verbindungsstück zusammenfließen[2]). So bilden diese Bänder dort die Figur eines H oder X, dessen Schenkel um die Spore gewickelt sind. An ihren freien Enden zeigen sie eine spatelförmige Anschwellung. Sie sind sehr hygroskopisch; beim Austrocknen rollen sie sich auf, in feuchter Luft wieder ein. Haucht man trockene, auf dem Objektträger liegende Sporen während der Beobachtung an, so fangen die Bänder demgemäß an, sich einzurollen, wodurch die ganze Sporenmasse in Bewegung versetzt wird. Der Nutzen dieser Einrichtung liegt darin, daß sich die Sporen ineinanderhaken[3]), was eine gesellige Bildung der getrenntgeschlechtlichen Prothallien veranlaßt und somit die Aussicht auf Befruchtung erhöht; außerdem werden die in solcher Weise zu lockeren Flocken verbundenen Sporen durch den Wind besser ver-

---

[1]) E. Hannig, Flora, Bd. CII, 1911, S. 209.

[2]) E. Hannig, l. c. 1911, S. 229.

[3]) Vgl. A. de Bary, Bot. Ztg., XXXIX. Jahrg., 1881, Sp. 781, Anm.

breitet[1]). Die Entwicklungsgeschichte lehrt, daß die Spiralbänder aus den äußersten Partien des sog. Perispors hervorgehen, d. h. einer vom Periplasmodium der eigentlichen Sporenmembran aufgelagerten Haut, die, wie man mit Hilfe von Reagentien (Chlorzinkjod, bzw. Kalilauge und Glyzerin), namentlich an geplatzten und entleerten oder eingefalteten Sporen erkennen kann, außer der Spiralbänderschicht noch in eine äußere Gallertschicht, eine Mittelhaut und eine innere Gallertschicht zerfällt. Die Sporenmembran selbst besteht aus zwei dicht aneinanderliegenden und so als Einheit erscheinenden Häuten, dem sog. Exospor und Endospor. An ihrer Vereinigungsstelle sind die Bänder durch einen nach innen zu nabelartig vorspringenden Fortsatz mit dem Exospor verwachsen[2]). Das kann man evtl. an Alkoholmaterial erkennen, in dem die Häute mit Ausnahme dieser Stelle sich voneinander abheben, wobei übrigens auch der Kern in der Spore deutlich hervortritt. Fügen wir Chlorzinkjodlösung zu einem solchen Präparat hinzu, so nehmen die inneren Teile der Bänder eine schöne blaue, auf Zellulose hinweisende Färbung an, während die äußeren bräunlich werden; die mittlere Haut färbt sich gelbbraun, dabei schlägt diese Haut Falten. Der Inhalt der frischen Spore erscheint grün von zahlreichen kleinen Chlorophyllkörnern[3]).

Die Equisetumsporen keimen bald, wenn man sie auf ein feuchtes Substrat oder Wasser aussät. Sie schwellen zunächst bedeutend an, ohne ihre Kugelgestalt zu ändern. Der Kern teilt sich, und bei der darauf folgenden Zellteilung wird der Inhalt der Spore durch eine uhrglasförmige Scheidewand in zwei ungleich große Zellen zerlegt. Die äußere Haut der Spore wird jetzt gesprengt, während die kleinere, linsenförmige, spärlich Chlorophyll führende Zelle zu einem langen Rhizoid auswächst. Aus der großen, dicht mit Chlorophyll gefüllten Zelle geht das Prothallium hervor. — Die Teilung der Sporen erfolgt sowohl im Dunkeln, wie im Licht, selbst bei intensivem Sonnenlicht. Im Licht erfolgt sie viel rascher als im Dunkeln. Bei Untersuchung der dem direkten Sonnenlicht ausgesetzten Sporen findet man stets, daß die Prothalliumzelle der Lichtquelle zugewandt, die Rhizoidzelle von ihr abgewandt ist. Dasselbe Verhalten zeigen die keimenden Sporen auch bei schwachem, einseitig einwirkendem Licht. Bei horizontaler Durchleuchtung der Spore liegt die Achse des Prothalliums entsprechend horizontal; bei Beleuchtung von unten, wie sie durch einen Spiegel bewirkt werden kann, kommt die Prothalliumzelle nach unten, die Wurzelzelle nach oben zu liegen. Die Längsachse des künftigen Prothalliums wird also durch den Gang der Lichtstrahlen an der vor der Keimung indifferenten Spore bestimmt. Zu diesen Versuchen sind frisch aus dem Sporangium entleerte Sporen zu verwenden, die in einer unveränderten Lage erhalten werden müssen. Das erreicht man entweder dadurch, daß man die Sporen in einer dünnen, sehr wasserreichen Gelatineschicht auf der Oberfläche von Glasplatten aussät oder einfach auf Glasplatten ausstreut, die mit sehr feinem, durchsichtigem, feucht gehaltenem Seidenpapier bedeckt sind[4]).

[1]) K. Goebel, l. c. 1915—18, S. 1163.

[2]) E. Hannig, l. c. 1911, S. 225.

[3]) Über die zytologischen Verhältnisse bei der Bildung der Equisetum-Sporen vgl. R. Beer, New Phytologist, Bd. VIII, 1909, S. 261.

[4]) E. Stahl, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. III, 1885, S. 334. Vgl. a. K. Ludwigs, Flora, Bd. CIII, 1911, S. 404 ff.; hier wie auch bei K. Goebel, l. c. 1915—18, S. 942 ff. Angaben über die Prothallien der Equiseten. Betr. der Spermatogenese vgl. L. W. Sharp, Bot. Gaz., Bd. LIV, 1912, S. 89.

Die Gattung Lycopodium gehört den homosporen Lycopodinen an, wie denn alle jetzt noch lebenden Lycopodiaceen (Bärlapp-Gewächse im engeren Sinn) nur eine Art von Sporen aufweisen. Die Sporangien stehen einzeln auf der Basis der Blätter. Die fertilen Blätter folgen entweder auf die sterilen an sonst unverändert gebliebenen Sprossen, die auch weiterhin wieder sterile Blätter erzeugen, oder die fertilen Blätter stehen an besonders ausgebildeten Sprossen zu ährenförmigen Sporangienständen vereinigt. Der Tannenbärlapp (Lycopodium Selago), den wir untersuchen wollen, bildet abwechselnd sterile und fertile Blätter an derselben Achse. Lösen wir ein fertiles Blatt samt Sporangium von dem Stengel ab und betrachten es unter einem Präpariermikroskop, so sehen wir, daß das Sporangium dicht an der Basis des linealisch-lanzettlichen Blattes mit sehr kurzem Stiel eingefügt ist, und eine nierenförmige Gestalt besitzt. Wir stellen auch fest, daß es am Scheitel mit einem zur Blattfläche parallelen Riß in zwei am Grund vereinigt bleibende Klappen aufspringt. Die Trennungsstelle ist vorgebildet, wie das dort die abweichende Gestalt der Zellen schon in Oberflächenansicht zeigt. — Wir führen nunmehr Längsschnitte in größerer Anzahl durch einen fertilen Stengelteil aus, wobei es meist gelingt, auf dem einen oder dem andern die Ansatzstelle eines Sporangiums genau zu treffen. Auf diese Weise stellen wir fest, daß der Stiel des Sporangiums genau in der Achsel eines Blattes entspringt; ein Leitbündel tritt in ihn nicht ein; der Verlauf der darunter befindlichen Blattspur wird von dem Sporangium nicht beeinflußt. Die Wandung des völlig reifen Sporangiums besteht aus einer hellgelben Epidermis und einigen auf diese folgenden, mehr oder weniger kollabierten Zellschichten. Die Epidermiszellen sind nur an der Innenfläche stark verdickt, an den Seitenwänden keilt sich die Verdickung aus. Von der Fläche betrachtet, zeigt diese Epidermis schön welligen Umriß. Der Stiel des Sporangiums wird von zahlreichen langgestreckten Zellen durchzogen, der Grund des Sporangiums ist auch im fertigen Zustand von einem mehrschichtigen Gewebe eingenommen. Die Sporen bleiben relativ lange, ihrem Ursprung aus je einer Mutterzelle gemäß, in Tetraden vereinigt. Jede einzelne Spore zeigt sich an der einen Seite abgerundet, an der andern entsprechend den Berührungsflächen mit ihren drei Schwesterzellen dreiflächig zugespitzt. Die Kanten sind hier leistenförmig verdickt, und innerhalb der Leisten öffnet sich bei der Keimung die Spore. Die Sporenhaut ist netzförmig gezeichnet, und zwar an der abgerundeten Fläche deutlicher als an der dreiflächig zugespitzten. — Ebenso wie Lycopodium Selago können auch die mit ährenförmigen Sporangienständen ausgestatteten Arten zur Untersuchung dienen. Die Verhältnisse bleiben sich im wesentlichen gleich. In mancher Beziehung ist Lycopodium clavatum, der Keulen-Bärlapp, für die Untersuchung noch günstiger als Lycopodium Selago. Die Sporangien sind etwas höher auf die Blattbasis hinaufgerückt und sitzen ihr mit breiterem Stiel an. Dieser Stiel ragt höckerartig in die Kapsel hinein. Die Sporen bleiben lange zu Tetraden verbunden und zeigen viel deutlichere Zeichnung der Wand. Die Wand ist erheblich brauner als bei Lycopodium Selago. Die zweischichtige Sporangienwand zeigt die Zellen ihrer Außenschicht wellenförmig umgrenzt und mit Verdickungsleisten an den Biegungsstellen besetzt. In den Öffnungslinien weisen die Zellen glatten Umriß auf. Behandlung mit Phlorogluzin und Salzsäure (vgl. S. 267) läßt die Trennungslinie als rotes Band vortreten, was auf eine Verholzung der Zellwände

auch an der Innenseite hindeutet, während in den übrigen Wandzellen diese Reaktion sich nur an den Seitenwänden, im besonderen den Verdickungsleisten, einstellt[1]).

Die Selaginellen[2]) (Moosfarne) sind heterospore Lycopodinen; sie besitzen zweierlei Sporangien und Sporen. Sie werden wohl auch als Ligulaten bezeichnet, weil ihre Blätter an der Basis mit einer kleinen Zunge versehen sind. Wir nehmen die in den Gewächshäusern allgemein verbreitete Selaginella Martensii Sprg. in Untersuchung. Die fertilen Exemplare sind leicht an den ährenförmigen Sporangienständen kenntlich, die sie meist an den Enden ihrer Sprosse entwickeln. Der vegetative Körper der Pflanze ist in einer Ebene ausgebreitet; er trägt 4 Reihen von Blättern in Paaren, die sich schief kreuzen. In jedem Paar bleibt das obere Blatt klein, das untere wird bedeutend größer. Die zwei Reihen oberer Blätter an der Rückenfläche drücken sich dem Stengel mit ihrer Oberseite an. Die 2 Reihen unterer Blätter an der Bauchfläche sind nach den Seiten hin, ihre Oberseite nach oben kehrend, ausgebreitet. Der vegetative Körper der Pflanze zeigt somit einen dorsiventralen Aufbau, d. h. es gibt nur eine einzige Symmetrieebene, wobei die rechte Hälfte der linken gleicht, während die Bauchfläche sich von der Rückenfläche unterscheidet. Die fertilen gipfelständigen Ähren sind hingegen vierkantig, mit 4 Reihen gleichgestalteter, aufwärtsgerichteter Blätter versehen. Wir orientieren uns nun über den Bau der Ähren zunächst in der Weise, daß wir von ihnen, an ihrer Basis beginnend, ein Blatt nach dem andern mit Nadeln unter dem Präpariermikroskop ablösen. Wir sehen je ein eiförmiges, etwas abgeplattetes Sporangium in der Achsel eines jeden Blattes stehen. Schon bei dieser Operation fällt es uns auf, daß manche Sporangien größer sind und vorspringende Buckel zeigen. Öffnen wir die großen, buckligen Sporangien mit den Nadeln, so kommen 4 große Sporen, die das Sporangium völlig erfüllten und dessen Wände stellenweise vorwölbten, zum Vorschein; öffnen wir ein kleines Sporangium, so zeigt sich dieses mit zahlreichen kleinen Sporen erfüllt. Die großen Sporangien sind weibliche Sporangien, Makrosporangien, ihre großen Sporen weibliche Sporen, Makrosporen; die kleinen Sporangien und Sporen sind männliche und werden als Mikrosporangien bzw. Mikrosporen bezeichnet. Bei hinreichend starker Vergrößerung zeigen die kleinen Sporen sehr ähnliche Gestalt und Wandstruktur wie die Sporen von Lycopodium; sie hängen auch meist in Tetraden zusammen. Dieselben Verhältnisse treten uns in vergrößertem Maßstab an den 4 Makrosporen entgegen. Wir sehen an ihnen deutlich die dreiflächige Zuschärfung der einen Seite; um hingegen die vorspringenden, netzförmig verbundenen Leisten an ihrer Wandung gut unterscheiden zu können, empfiehlt es sich, sie zu zerquetschen. Die Wand der Mikrosporen wird alsbald dunkelbraun, während die der Makrosporen viel heller bleibt. Betrachten wir die Blätter, von denen wir die Sporangien entfernt haben, so sehen wir dicht über der Ansatzstelle des entfernten Sporangiums die Ligula als ein zungenförmiges Häutchen vor-

[1]) K. Goebel, l. c. 1915—18, S. 1165.

[2]) Vgl. H. Bruchmann, Unters. über Selaginella spinulosa, 1897; ferner Derselbe, Flora, Bd. CIV, 1912, S. 180 und Zeitschr. f. Bot., Bd. XI, 1919, S. 39; H. Fitting, Bot. Ztg., LVIII. Jahrg., 1. Abt., 1900, S. 107; F. M. Lyon, Bot. Gaz., Vol. XXXII, 1901, S. 124; P. Denke, Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. XII, 1902, S. 182 ff. Vgl. a. die entspr. Abschnitte bei K. Goebel, l. c. 1915—18.

springen. Diese Ligula dient zur Absorption von Wasser und Nährsalzen, kann aber unter Umständen auch als wasserausscheidendes Organ fungieren[1]. — Ein fortgesetztes Ablösen der Blätter von dem Sporangienstand zeigt uns, daß die Makrosporangien an ihm spärlicher als die Mikrosporangien, und zwar vorwiegend in den unteren Teilen der Ähre vertreten sind. Die Verhältnisse liegen hier also umgekehrt wie in einer angiospermen Blüte, die ihre männlichen Sporophylle zuerst und dann erst die weiblichen bildet. — Die reifen Sporangien springen transversal mit zwei Klappen auf, die nicht bis zum Grund reichen. Dieses Aufspringen erfolgt längs einer Dehiszenzlinie, die auch hier durch Zellen von besonderem Bau bezeichnet ist und sich nach unten zu gabelt. Dieser Bau ist an den Makrosporangien besonders ausgeprägt. Beim Öffnen biegen sich die beiden Klappen des Makrosporangiums mit solcher Gewalt auseinander, daß die 4 Makrosporen auf merkliche Entfernung fortgeschleudert werden[2]. Sowohl bei Lycopodium wie bei Selaginella wird die innerste Schicht der Wandung, die Tapetenschicht (s. S. 563), nicht aufgelöst. Daher weist auch die Membran der Sporen kein ihr aufgelagertes Perispor auf. Der Raum zwischen den sich entwickelnden Sporenzellen ist nur mit schleimiger, ihre Ernährung vermittelnder Flüssigkeit erfüllt, die anscheinend von den radial gestreckten, inhaltsreichen Tapetenzellen ausgeschieden wurde.

Erwähnt sei hier im Anschluß, daß die Selaginellen beim Eintrocknen so vorzüglich sich erhalten, daß man sogar in heißem Wasser aufgeweichte Herbar-Exemplare benutzen kann, um die Vegetationskegel und die Sporangienanlagen zu studieren. Besitzen die Objekte viele und große Luftlücken, so ist ein dem Aufweichen vorausgehendes Eintauchen des Herbarobjekts in Alk. abs. anzuraten. Schnitte durch frisches, wie durch so aufgeweichtes Material lassen sich mit Kalilauge oder auch durch Kochen in Milchsäure sehr schön durchsichtig machen, was speziell für aufgeweichtes Herbarmaterial empfohlen worden ist[3].

An die homosporen Farne schließen die heterosporen Salviniaceen (Schwimmfarne) und Marsiliaceen (Kleefarne) an. In ihrer äußeren Gliederung nicht wenig verschieden, zeigen die Salviniaceen und Marsiliaceen doch so viel übereinstimmende Charaktere, daß sie als Hydropterideen (früher Rhizokarpeen genannte Wasserfarne) zusammengefaßt werden. Die einheimische, wenn auch nicht sehr verbreitete Salvinia natans ist eine auf dem Wasser horizontal schwimmende, dorsiventrale Pflanze, die ihre Blätter in dreigliedrigen Wirteln trägt. Die beiden rückenständigen Blätter sind annähernd oval, auf der Wasserfläche ausgebreitet und heißen Luftblätter. Das dritte, der Bauchfläche entspringende Blatt ist in zahlreiche, mit Haaren besetzte Zipfel gespalten, hängt in das Wasser hinab und wird als Wasserblatt bezeichnet. Dem Wasserblatt fallen bei Salvinia die Funktionen der fehlenden Wurzeln zu. Am Grunde der basalen Zipfel dieser Wasserblätter sitzen die annähernd kugeligen Sporokarpien, deren

---

[1]) W. SEYD, Dissert. Jena, 1910.

[2]) Näheres über den Bau der Sporangien und den Mechanismus des Herausschleuderns der Sporen bei K. GOEBEL, Flora, Bd. LXXXVIII, 1901, S. 207, und Organographie, 2. Aufl., II. T., 1915—18, S. 1159 ff. Ferner C. STEINBRINCK, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XX, 1902, S. 117; S. SCHWENDENER, Sitzber. K. preuß. Akad. d. Wiss., Berlin, 1902, S. 1056; F. W. NEGER, Flora, Bd. CIII, 1911, S. 74.

[3]) Nach O. JUEL, Svensk. Bot. Tidskr., Bd. IV, 1910, S. 146.

jedes einem Sorus der Farne entspricht[1]). Diese Sporokarpien stehen zu mehreren beisammen. Sie sind an ihrer Außenfläche mit meridianartig verlaufenden Rippen versehen und mit Haaren besetzt, welche aus einer einfachen, kurzen oder längeren Zellreihe mit einem seitlichen einzelligen Sporn[2]) bestehen und mit einer kurzen, sehr scharf zugespitzten Zelle enden. Ein medianer Längsschnitt, den wir zwischen den Fingern

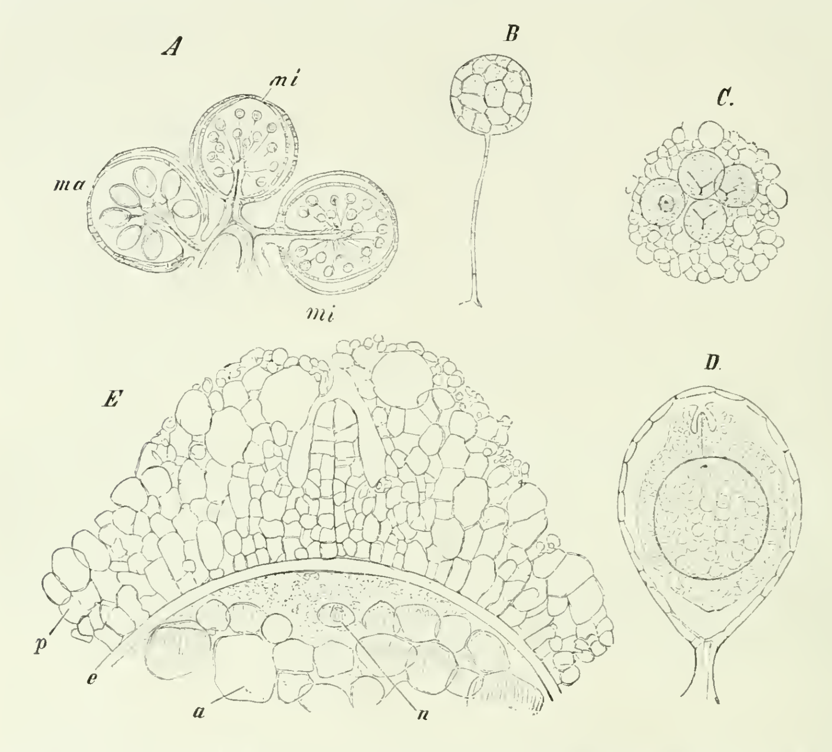


Fig. 221. Salvinia natans. *A* drei Sporokarpien in medianem Längsschnitt, *ma* Makrosporokarp., *mi* Mikrosporokarp. Vergr. 8. *B* ein Mikrosporangium, von außen gesehen. Vergr. 55. *C* Partie aus einem Mikrosporangium, die in die schaumige Zwischensubstanz eingebetteten Mikrosporen zeigend. Vergr. 250. *D* Makrosporangium und Makrospore, beide in medianem Längsschnitt. Vergr. 55. *E* Scheitel einer Makrospore, *p* Perinium, *e* Exospor, *a* Proteïnkörner, *n* Zellkern. Vergr. 240.

durch ein oder einige zusammenhängende Sporokarpien führen (Fig. 221 *A*), zeigt uns, daß sich der Stiel jedes Sporokarps als Säulchen (Columella) in dessen Inneres fortsetzt. Diesem Säulchen sitzen die zahlreichen Sporangien auf. Das Säulchen entspricht somit einer Farnplacenta. Die Sporokarpwandung, die tiefer dem Stiel eingefügt ist, müssen wir als Indusium auffassen. Zum Unterschied von den Farnen schließt hier aber das Indusium als vollständige Hülle über dem Sorus zusammen. Um den Bau des Indusiums genauer kennenzulernen, machen wir auch gleich

[1]) Vgl. zu deren Entwicklung S. ZAWIDZKI, Beih. z. bot. Zentralbl., 1. Abt., Bd. XXVIII, 1912, S. 17 ff.

[2]) Vgl. M. MÖBIUS, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXIV, 1916, S. 255.

noch einen Querschnitt in halber Höhe des Sporangiums. Dieser zeigt uns, daß die Sporokarpienwandung aus einer inneren und einer äußeren Zellschicht besteht und daß beide durch meridianartig gestellte Zellschichten verbunden sind. Zwischen diesen Scheidewänden befinden sich Luftkanäle; die äußeren Wandungen dieser Kanäle sind nach außen etwas vorgewölbt und bilden die Rippen. Vergleichen wir jetzt wieder den Längsschnitt, so sehen wir, daß der Abstand der inneren und äußeren Wandung in halber Höhe der Frucht am größten ist. Die Luftkanäle keilen sich schließlich an beiden Enden aus (vgl. Fig 221*A*). Im Längsschnitt bekommen wir eine, die Luftkanäle trennende Scheidewand öfters von der Fläche zu sehen. Breiten wir eine ganze Sporokarpwandung aus und betrachten sie von innen, so sehen wir zwischen den Zellen der Innenschicht, über den Luftkanälen, hier und da eine kleine Spaltöffnung von sehr unregelmäßigem Umriß liegen. Stellenweise entspringen der Innenschicht auch kurze Haare. — Wir kehren wieder zu den Längsschnitten zurück und stellen zunächst fest, daß je ein Leitbündelzweig des Blattes in ein Sporokarpsäulchen eintritt. Das Säulchen trägt zahlreiche Sporangien, und zwar entweder sehr zahlreiche kleine, oder weniger zahlreiche große. Da die Sporangien durch die Wandung des Sporokarps etwas durchschimmern, so kann man sich die wesentlich selteneren Sporokarpien, die Makrosporangien führen, mit der Lupe aussuchen. Die kleineren Sporangien, Mikrosporangien, (*mi*), haben einen langen, von nur einer Zellreihe gebildeten Stiel (Fig. 221*B*). Das reife Sporangium ist braun; machen wir es mit Kalilauge durchsichtig, so können wir leicht sehen, daß es eine einschichtige Wand besitzt. Die Zellen dieser Wand sind polygonal und deren seitliche Konturen zeichnen sich bei Flächeneinstellung des Sporangiums als weitmaschiges, braunes Netz (*B*). Im Innern des Sporangiums scheinen die Mikrosporen durch. Man sieht sie besser an Sporangien, die der Schnitt geöffnet hat. Die Sporangien lassen sich auch mit den Nadeln öffnen, doch müssen sie, falls die Operation gelingen soll, nur mit einer Spur Wasser oder Glyzerin dem Objektträger anhaften, da sie sonst unter den Nadeln weggleiten. Schnitte durch Alkohol-Material sind zu empfehlen; am schönsten aber werden die Bilder, wenn man Schwefelsäure auf Alkohol-Material einwirken läßt. — Der in dieser oder jener Weise zur Beobachtung vorbereitete Inhalt des Mikrosporangiums zeigt die Mikrosporen zu je vier, oder in Multiplen von vier, einander genähert, und in einer gemeinsamen, schaumigen Masse eingebettet (*C*). Bei Alkohol-Material sieht man, nach Schwefelsäure-Behandlung besonders gut, daß die Sporen relativ dünne Wände haben, was ja zu dem Umstand paßt, daß sie aus der sie umgebenden Masse nicht entlassen werden. An jeder Spore sind deutlich drei, unter einem Winkel von 120° zusammenstoßende Leisten zu erkennen. Die Spore wird, diesen Leisten gemäß, mit drei Klappen bei der Keimung sich öffnen. Der Inhalt der Sporen ist feinkörnig, außerdem führt er einen zentralen Kern. Die Sporen sowohl als auch die schaumige Zwischensubstanz widerstehen der Schwefelsäure; die Zellen der Sporangiumwand und des Stiels werden voneinander getrennt, doch ebenfalls nicht gelöst. — Die Entwicklungsgeschichte hat gezeigt, daß die schaumige Substanz aus dem die Sporen umgebenden Periplasma hervorgeht, das seinerseits aus den in einschichtiger Lage das Innere des Sporangiums auskleidenden Tapetenzellen seinen Ursprung nahm, deren plasmatischer Inhalt nach Auflösung der Wände zu einer

körnigen Masse zusammenfloß[1]). Die Makrosporangien (Fig. 221 *D*) sind bedeutend größer als die Mikrosporangien und haben einen kürzeren, vielzelligen Stiel. Ihre Wand ist wie am Mikrosporangium gebaut, braun, einschichtig, mit netzförmig sich markierenden Seitenwänden der Zellen. Eine einzige große Makrospore füllt das Sporangium. Die Entwicklungsgeschichte[2]) lehrt, daß aus der Zentralzelle der Sporangien, die den Sporen den Ursprung gibt, im Mikrosporangium 64 Sporen in 16 Sporenmutterzellen, im Makrosporangium 32 Sporen in 8 Sporenmutterzellen angelegt werden. Im Mikrosporangium gelangen alle Sporen-Anlagen zur Weiterentwicklung, im Makrosporangium wächst hingegen eine Spore alsbald nach ihrer Anlage stärker und verdrängt alle anderen, so daß sie schließlich allein das Sporangium erfüllt. — Um Einblick in den Bau der Makrospore zu gewinnen, wenden wir uns an Alkohol-Material, das in Glyzerin zu untersuchen ist. Längsschnitte durch das Sporangium geben hier leicht auch gute Längsschnitte durch Sporen, so daß unter einer hinreichenden Anzahl von Schnitten sicher das gewünschte Bild zu finden ist. Die Makrospore sieht mit ihrem Scheitel nach dem Scheitel des Sporangiums. Sie zeigt auf genauen, medianen Längsschnitten einen großen, annähernd runden Innenraum, der mit großen, stark lichtbrechenden, z. T. eckigen Körnern erfüllt ist (*D* und *E*, *a*). Diese Körner färben sich in Jod gelbbraun; sie reagieren wie Proteïnkörner. Dazwischen sind in der Grundsubstanz noch fettes Öl und kleine Stärkekörner vertreten. Scheitelwärts ist in der Spore Plasma angesammelt, und nach Einwirkung von Hämatoxylin wird hier auch der mit einem großen Kernkörperchen versehene Kern sichtbar (*E*, *n*). Die Spore ist umgeben von einer derben, braunen, homogenen Wand, dem Exospor oder der Exine (*E*, *e*); dieser sitzt nach außen eine dicke, schaumige Hülle, das Perispor oder Perinium, auf (*p*), die am Scheitel der Spore eine vorspringende Warze bildet (Fig. 221 *D*), dabei der Zwischensubstanz des Mikrosporangiums entspricht und ebenso, wie diese, dem aus dem Tapetenzellplasma hervorgehenden Periplasma (Periplasmodium) entstammt. Ist die Warze genau median getroffen, so zeigt sie eine sich nach innen trichterförmig erweiternde Vertiefung und in dieser einen zentralen Vorsprung, der von einer medianen Trennungslinie durchsetzt wird (Fig. 221 *D*). Ein volles Verständnis dieses letzten Bildes gewinnen wir erst an Sporenschnitten, die wir zufällig in Scheitelansicht sehen, oder die wir mit den Nadeln künstlich in diese Lage bringen. Da treten uns am Scheitel der Spore, von der schaumigen Hülle gebildet, drei stark vorspringende Lappen und, mit diesen alternierend, drei schwach vorspringende Leisten entgegen. Letztere stoßen in der Mitte unter Winkeln von 120° zusammen und zeigen sich von je einer Trennungslinie durchsetzt. Diese Leisten liegen über drei entsprechenden Leisten der braunen Sporenhaut, und in den Trennungslinien dieser Leisten öffnet sich später die Spore. — Zur Zeit der Keimung läßt sich noch eine dritte, zarte Haut im Innern erkennen, die als Endospor oder als Intine zu unterscheiden wäre.

---

[1]) E. Strasburger, Bau u. Wachst. der Zellhäute, 1882, S. 133; Histol. Beitr., Heft II, 1889, S. 29; Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXI, 1898, S. 543; A. Kundt, Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. XXVII, 1911, S. 26. Vgl. a. E. Hannig, Flora, Bd. CII, 1911; S. 209 ff.

[2]) Vgl. L. Juranyi, Über die Entwicklung der Sporangien und Sporen von Salvinia natans, 1873, S. 11 u. ff.; E. Heinricher, Sitzber. Akad. Wiss. Wien, Bd. LXXXV, 1882, S. 494; E. Strasburger, l. c. 1889, S. 30. Über die mit Hilfe der modernen Methoden festgestellten Einzelheiten vgl. W. Arnoldi, Flora, Bd. C, 1910, S. 121 ff.; ferner A. Kundt, l. c. 1911, und K. Yasui, Ann. of Bot., Bd. XXV, 1911, S. 469 ff.

Wir wollen das von den Mikro- und Makrosporen gewonnene Bild durch kurze Angaben über deren weiteres Schicksal ergänzen[1]). Die Sporen keimen, im Zimmer gehalten, meist schon gegen Ende Februar, bei hoher Temperatur auch früher, im Freien erst gegen Mitte Mai. Die Mikrosporen bleiben, durch die schaumige Zwischensubstanz zusammengehalten, in dem Mikrosporangium eingeschlossen. Jede Mikrospore treibt durch die Wand des Sporangiums einen kurzen Schlauch, der sein Ende als Antheridium ausbildet und in diesem 8 Spermatozoiden erzeugt. Im Scheitel der Makrospore entsteht ein kleines Prothallium, das die 3 Klappen der Exine sprengt und sich über die Spore ausbreitet. Es ist etwa sattelförmig gestaltet, grüngefärbt und bildet auf seiner Rückenfläche mindestens drei in einer queren Reihe angeordnete Archegonien. Meist wird eins von diesen befruchtet, und dann unterbleibt die Bildung weiterer Archegonien. Diese Archegonien sind sehr ähnlich jenen der Farne gebaut, doch ist ihr Halsteil so reduziert, daß er kaum über die Fläche des Prothalliums hervortritt.

Bei einigen Arten der Gattung Marsilia konnte man die Weiterentwicklung nicht befruchteter Eier nachweisen, deren Kern jedoch die für vegetative Zellkerne charakteristische doppelte Chromosomenzahl aufwies (Apogamie nach STRASBURGER, somatische Parthenogenesis nach WINKLER)[2]). Echte Parthenogenese (generative P. nach WINKLER), die zuerst bei ihnen angenommen wurde[3]), tritt nicht ein. Chemische Mittel, mit denen es gelang, parthenogenetische Entwicklung der Eier bei manchen Tieren anzuregen, blieben bei Marsilia ohne Erfolg[4]). Die von den absterbenden Kanalzellen in das Ei hinüberdiffundierenden „Nekrohormone" sollen es sein, welche dessen Weiterentwicklung anregen[5]).

---

1) Hierzu vergl. N. PRINGSHEIM, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. III, 1863, S. 510; G. ARCANGELI, Nuovo Giorn., Bot. Ital., Vol. VIII, No. 3, K. PRANTL, Bot. Ztg., XXXVII. Jahrg., 1879, Sp. 425; H. BAUKE, Flora, Bd. LXII, 1879, S. 209. W. ARNOLDI, l. c. 1910, S. 122 ff.

2) E. STRASBURGER, Flora, Bd. XCVII, 1907, S. 123.

3) A. NATHANSOHN, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XVIII, 1900, S. 99. — Zu diesem Gegenstand sowie zur Nomenklatur vgl. A. ERNST, Bastardierung als Ursache der Apogamie im Pflanzenreich, Jena 1918, und HANS WINKLER, zuletzt in Verbreitung und Ursache der Parthenogenesis im Pflanzen- und Tierreiche, Jena, 1920. S. a. S. 648 dies. Prakt.

4) Eine Zusammenstellung der Literatur auf zoologischem Gebiet findet man u. a. bei E. B. WILSON, Arch. f. Entwicklungsgesch. d. Organismen, Bd. XII, 1901, S. 590, und O. u. G. HERTWIG, Allgemeine Biologie, 5. Aufl., 1920, S. 359 ff.

5) Nach G. HABERLANDT, Sitzber. d. Preuß. Akad. d. Wiss., Berlin, phys.-math. Kl., 1922, S. 9. Über eine Anregung zu parthenogenetischer Teilung bei Seeigeleiern vermittels Spermaextrakt usw. vgl. HANS WINKLER, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXVI, 1901, S. 761; s. a. Reg. IV Spermaextrakt, Tanninmethode.

XXVII. Abschnitt.

Fortpflanzung der Gymnospermen. Membranstoffe des Pollens. Innenkörper des Pollenkorns. Öffnungsmechanismus der Antheren. Befruchtungsvorgang. Keim.

Keimentwicklung.

Untersuchungsmaterial.

Männliche Blüten von Pinus silvestris zur Blütezeit, etwa Ende Mai in Alkohol eingelegt. Um die nämliche Zeit in Alkohol eingelegte weibliche, erstjährige Zäpfchen, welche aufrecht die Enden neuer Triebe einnehmen. Picea excelsa, junge Zapfen, zur Befruchtungszeit in Alkohol, fixiert, bzw. auch anders fixierte Samenanlagen; Zapfen mit reifen Samen, frisches oder Alkoholmaterial. Das Alkoholmaterial ist vor der Untersuchung für mindestens 24 Stunden in ein Gemisch gleicher Teile Alkohol und Glyzerin einzulegen.

Taxus baccata, männliche und weibliche Blüten. In Alkohol eingelegte, erstjährige Zapfen von Picea excelsa; von Mitte Mai bis Ende Juli alle 8 Tage frisches Material in Alkohol eingelegt. Pinus silvestris, Zapfen mit jungen Keimanlagen, Alkoholmaterial.

Wichtigste Reagentien und Einschlußmedien.

Kalilauge. — Glyzerin. — Mit Alkohol verdünnte Karbolsäure.

Die Spermatophyten (Phanerogamen) zerfallen in die beiden großen Klassen der Nacktsamigen und Bedecktsamigen oder der Gymnospermen und Angiospermen. Diese Abteilungen unterscheiden sich vornehmlich im Bau der Blüte, sowie in den Vorgängen der Befruchtung und Keimbildung, die wir zunächst bei den Gymnospermen[1]) betrachten wollen. Wir machen uns vor allem mit dem Bau der männlichen Blüten der Kiefer, Pinus silvestris, bekannt. Diese Blüten stäuben etwa Ende Mai; doch läßt sich sehr gut auch Alkoholmaterial untersuchen, das, weil zu brüchig, mindestens einen Tag vor Beginn der Untersuchung in ein Gemisch von gleichen Teilen Alkohol und Glyzerin einzulegen ist. — Zunächst stellen wir fest, daß die männlichen Blüten hier in größerer Zahl an den unteren Teilen eines gleichalterigen Sprosses stehen. Sie sind in $^5/_{13}$ -Divergenz angeordnet und entsprechen ihrer Stellung nach durchaus den zweinadeligen Kurztrieben, die in ununterbrochener Reihenfolge sich den

---

[1]) Vgl. hierzu E. Strasburger, Koniferen u. Gnetaceen, 1872. Die Angiospermen und die Gymnospermen, 1879; A. W. Eichler, Blütendiagramme, Bd. I, 1875; K. Goebel, Organographie, II. Teil, 1901, S. 690; J. M. Coulter, und Ch. Chamberlain, Morphology of Gymnosperms, 1910; dort auch weitere Literatur. Schließlich R. v. Wettstein, Handbuch der syst. Bot., 2. Aufl., Leipzig u. Wien, 1911, S. 364 ff. u. J. T. Buchholz, Amer. Journ. of. Bot., Bd. VII, 1920, S. 125 ff.

Blüten anschließen. Die Blüten stehen ebenso wie die Kurztriebe in den Achseln von Niederblättern. Am Stiel der männlichen Blüte finden wir zunächst drei dekussierte Niederblattpaare. Das unterste Blattpaar ist lateral im Verhältnis zum Deckblatt und dem Muttersproß gestellt, eine Stellung, die sich aus den vorhandenen Raumverhältnissen von selbst ergibt und die bei dem ersten Blattpaar der vegetativen Knospen der Gymnospermen fast ausnahmslos wiederkehrt. Auf die Niederblätter des kurzen Blütenstiels folgen, dicht gedrängt und meist in zehn geraden Reihen angeordnet, die Staubblätter. Die Blütenachse ist gestreckt spindelförmig. — Ein einzelnes Staubblatt, losgelöst und unter dem Präpariermikroskop betrachtet,

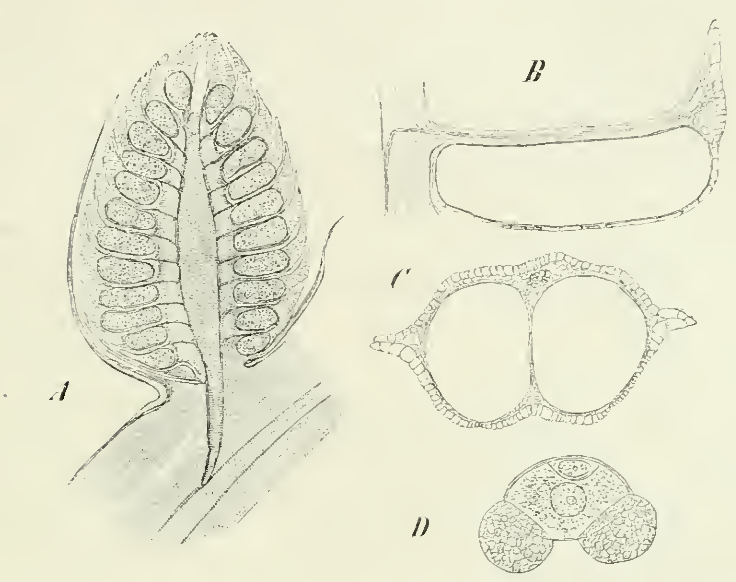


Fig. 222. Pinus Pumilio (mit Pinus silvestris übereinstimmend). *D* von Pinus silvestris. *A* Längsschnitt durch eine fast reife, männliche Blüte. Vergr. 10. *B* Längsschnitt durch ein einzelnes Staubblatt. Vergr. 20. *C* Querschnitt durch ein Staubblatt. Vergr. 27. *D* ein reifes Pollenkorn. Vergr. 400.

zeigt sich an seiner Unterseite von zwei longitudinal inserierten, in der Mediane zusammenstoßenden Pollensäcken eingenommen; an seinem Scheitel läuft es in einen kurzen, aufwärts gerichteten Saum aus. Der mediane Längsschnitt durch die Blüte, kurz vor der Anthese, d. h. vor dem Öffnen der Pollensäcke (Fig. 222 *A*), zeigt, namentlich deutlich nach Behandlung mit Kalilauge, den Leitbündelverlauf in der Blütenachse, die Versorgung der Staubblätter mit einzelnen Leitbündeln, schließlich die Insertion der Pollensäcke an den Staubblättern. An weniger vollständigen Längsschnitten lassen sich wohl dünnere Stellen ausfindig machen, an denen der Bau einzelner Staubblätter (*B*) noch besser zu verfolgen ist. — Wir stellen dann auch tangentiale Längsschnitte durch die Blüte her, um Querschnitte einzelner Staubblätter zu bekommen, und suchen uns einen solchen zum näheren Studium aus (*C*). Wir sehen, daß die beiden Pollensäcke in diesem fertigen Zustand meist nur noch durch eine flache Wand aus kolla-

bierten Zellen getrennt werden, in die eine oder einige Schichten flacher, stärkehaltiger Zellen median eingeschaltet sein können. An ihrer freien Außenfläche sind die Pollensäcke von der Epidermis überzogen, an die nach innen zu meist nur noch kollabierte Zellen stoßen. Die Epidermiszellen sind in der Längsrichtung des Blattes gestreckt und mit Verdickungsleisten versehen, die an den Seitenwandungen besonders kräftig sind, an den Außenwandungen aber ganz fehlen. In der Mediane des Staubblattes, oberhalb und unterhalb der die beiden Pollensäcke trennenden Scheidewand, läuft je ein Mesophyllstreifen. Der obere ist stärker und wird von dem sehr zarten Leitbündel durchzogen. An den beiden Seitenkanten des Staubblattes springt die Epidermis zu einem nur schwach oder etwas stärker entwickelten Flügel vor; im letzteren Fall ist ein wenig Mesophyll zwischen den Epidermen nachzuweisen. An der Unterseite der Pollensäcke nehmen die Epidermiszellen von beiden Seiten her an Größe ab; dort, wo diese Epidermiszellen am schwächsten sind, öffnen sich die Pollensäcke durch eine Längsspalte[1]). Diese Pollensäcke ähneln sehr den Sporangien der Lycopodiaceen. In der Tat haben auch die vergleichenden, entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen zu der Auffassung geführt, daß die Pollensäcke der Sphermatophyten und die Mikrosporangien der niederen Pflanzen homologe Gebilde sind. — Sehen wir uns jetzt die in den Pollensäcken erzeugten Pollenkörner, und zwar womöglich im frischen Zustand an, so bemerken wir, daß ein jedes einen mittleren Körper aufweist, dem zwei Blasen seitlich ansitzen (*D*). Ist die Blüte reif, so erscheinen die beiden Blasen, weil von Luft erfüllt, schwarz. Sie zeigen eine zierliche Felderung auf ihrer Oberfläche. Die mittlere, eigentliche Pollenzelle führt feinkörniges Plasma und einen großen Kern. Kurz vor der Anthese finden Teilungen im Pollenkorn statt, und im fertigen Pollenkorn sieht man an der von der Insertion der Flügel abgekehrten Seite eine linsenförmige Zelle der Wand ansitzen. Diese Zelle ist am besten zu sehen, wenn das Pollenkorn, so wie in unserer Figur, auf der Seite liegt. In den Pollenkörnern der meisten Koniferen sind mehrere solche Zellen einander aufgesetzt und bilden einen charakteristischen, mehr oder weniger tief in das Pollenkorn hineinragenden Zellkörper[2]). Diese Innenkörper der Pollenkörner bei den Gymnospermen sind als reduzierte Prothallien aufzufassen, deren Reduktion bei Pinus bis zum Verbleiben nur einer generativen Zelle im fertigen Pollenkorn fortgeschritten ist. Das Pollenkorn von Pinus weist 2 Häute, eine äußere „Exine“ und eine innere „Intine“ auf. Die Exine hat sich an zwei seitlich gelegenen Stellen gespalten, um Blasen zu bilden, die zunächst Flüssigkeit enthalten, bei der Reife aber sich mit Luft füllen und so die als Flügel bezeichneten Gebilde darstellen.

Die Entwicklungsgeschichte lehrt[3]), daß bei Pinus, wie bei Picea und Larix, d r e i P r o t h a l l i u m z e l l e n angelegt werden, von denen die beiden ersten der Resorption anheimfallen und nur die dritte erhalten bleibt. Im fertigen Pollenkorn von Pinus erscheinen die beiden resorbierten Prothallium-

[1]) Vgl. im übrigen K. GOEBEL, Flora, Bd. XCI, 1902, S. 238.

[2]) WL. BELAJEFF, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. IX, 1891, S. 280; E. STRASBURGER, Histol. Beitr., Heft IV, 1892, S. 1.

[3]) E. STRASBURGER, l. c. 1892, S. 10.

zellen wie schmale Membranspalten an den Insertionsstellen der generativen Zelle. — Wird die Intine reifer Pollenkörner durch Sprengung der Exine frei gemacht, so sieht man, daß sie besonders stark unter den Flügeln entwickelt und in ihren inneren Teilen stärker lichtbrechend als in den äußeren ist[1]). Entsprechende Färbungen (vgl. S. 173 u. 249) deuten darauf hin, daß die innere, stark lichtbrechende Schicht der Intine in ihrer chemischen Zusammensetzung von der äußeren, schwächer lichtbrechenden, unter den Blasen verdickten Schicht abweicht. Erstere soll aus Zellulose und Pektinstoffen, letztere aus Pektinstoffen und Kallose bestehen. Wenigstens treten letztere Stellen der Intine mit schön himmelblauer Farbe bei Anwendung von Anilinblau vor.

Von dem eben betrachteten Bau der männlichen Blüte von Pinus silvestris weicht am meisten die männliche Blüte von Taxus baccata, der Eibe, ab. Sie stäubt etwa im März, doch kann man sich dadurch, daß man das erwünschte Material rechtzeitig in Alkohol einlegt, von der Jahreszeit unabhängig machen. Die männlichen Blüten von Taxus stehen in den Achseln der Blätter vorjähriger Zweige. Sie beginnen mit einigen dekussierten Schuppenpaaren und gehen in die nach $^2/_5$ orientierten Schuppen über. Die Schuppen werden immer größer, endlich folgen in ganz unbestimmter Stellung an der verlängerten Blütenachse die schildförmigen Staubblätter. Sie haben, wie schon die Betrachtung mit der Lupe lehrt, eine nicht geringe Ähnlichkeit mit den fertilen, sporangientragenden Blättern der Equisetum-Ähren. Lösen wir ein Staubblatt mit dem Skalpell ab und untersuchen es unter dem Präpariermikroskop, so finden wir an der Innenseite des Schildes und an dessen Stiel 5—7 Pollensäcke inseriert. Letztere sitzen somit dem Schild mit ihrer Basis, dem Stiel mit ihrer Innenseite auf. Seitlich gegeneinander sind sie vorwiegend frei, ganz frei an ihrer Außenfläche und an dem Scheitel. Hierüber orientieren wir uns vollständig, indem wir noch mediane und auch tangentiale Längsschnitte zu Hilfe nehmen. Erstere zeigen uns die Staubblätter und Pollensäcke im Längsschnitt, letztere im Querschnitt. Im Längsschnitt erhält das ganze Staubblatt dadurch, daß sich die Pollensäcke nach außen erweitern, eine keilförmige Gestalt. Im Querschnitt wie im Längsschnitt sehen wir, daß die Wandung der reifen Pollensäcke auf die Epidermis und eine kollabierte Zellschicht reduziert ist. Die Wände dieser Epidermiszellen sind mit Verdickungsleisten versehen. Soweit wie die Pollensackwandung sich von dem Staubblattstiel lostrennen soll, zeigen ihre Epidermiszellen, wie Querschnitte lehren, eine bedeutende Größenreduktion. Um über die Art der Wandverdickung an den Pollensäcken klar zu werden, heben wir eine Wand mit den Nadeln von dem Staubblatt ab und stellen fest, daß es U-förmige Leisten sind, mit denen die Innen- und Seitenwände ihrer Epidermiszellen verdickt sind. Dieselbe Verdickung kommt auch den Epidermiszellen an der Außenfläche der Schilder zu. Das Öffnen der Pollensäcke wird in der bei Farnsporangien bereits (S. 555) besprochenen Weise bewirkt; es wird dabei die Pollensackwand nach außen durch sog. „Schirmbewegung“ zurückgeschlagen[2]). — Die Pollenkörner sind ellipsoidisch, mit kleinen Höckern besetzt. Sie besitzen keine blasigen Auftreibungen an

---

[1]) L. Mangin, Bull. de la soc. bot. de France, Bd. XXXVI, 1889, S. 281. Vgl. über weitere Färbungsmethoden Reg. IV Pollenhaut.

[2]) Vgl. K. Goebel, l. c. 1902, S. 247 ff. Vgl. a. A. W. Dupler, Bot. Gaz., Bd. LXVIII, 1919, S. 345, betr. Taxus canadensis.

der Wand, diese kommen auch nicht allen Abietineen zu, kehren andererseits unter den Taxineen bei Podocarpus wieder. Sie bieten einen jener Fälle merkwürdiger Übereinstimmungen, wie sie im Pflanzenreich öfters wiederkehren, ohne durch gemeinsamen Ursprung bedingt zu sein. Kurz vor der Anthese wird an dem einen Ende des Pollenkorns eine kleine Zelle abgegrenzt. An Alkohol-Material ist der Inhalt der Pollenkörner geschrumpft und für die Untersuchung unbrauchbar.

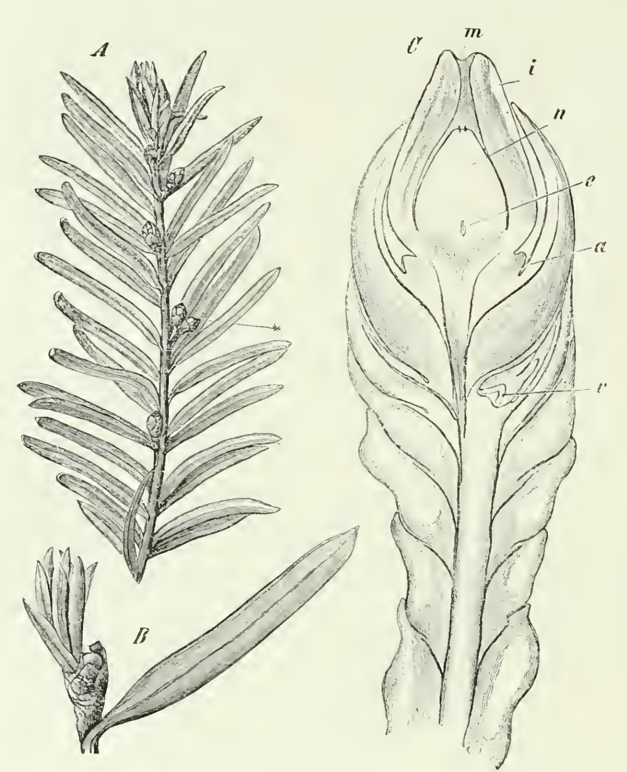


Fig. 223. Taxus baccata. *A* Habitusbild eines Zweiges mit weiblichen Blüten zur Bestäubungszeit, bei * zwei Samenanlagen an demselben Primansprößchen. Nat. Gr. *B* ein Blatt mit der in seiner Achsel stehenden Samenanlage, das Primansprößchen ist seitlich durchwachsen. Vergr. 2. *C* Längsschnitt durch die gemeinsame Mediane des Priman- und Sekundansprößchens, *v* Vegetationskegel des Primansprößchens, *a* Arillusanlage, *e* Embryosackanlage, *n* Nucellus, *i* Integument, *m* Mikropyle. Vergr. 18.

Die weiblichen Blüten von Taxus baccata[1]) findet man wie die männlichen, in den Blattachseln vorjähriger Triebe, doch auf anderen Individuen, da die Pflanze diözisch ist (Fig. 223 *A*). Die Blütezeit fällt in den März; in Alkohol halten sich die Blüten sehr gut und lassen sich auch sehr bequem untersuchen, nachdem sie mindestens 24 Std. in gleichen Teilen von Alkohol und Glyzerin gelegen haben. Die Blüten schließen scheinbar einen kleinen Sproß ab, sind aber in Wirklichkeit nicht terminal. Nicht eben selten findet man 2 Blüten an demselben Sprößchen (Fig. 223 *A**), ja in manchen Fällen stößt man auf die Erscheinung, daß seitlich von der Blüte sich ein weiter entwickelter Laubsproß zeigt (*B*). — Zunächst betrachten wir das Blütensprößchen mit der Lupe und stellen fest, daß es mit einem lateralen Schuppenpaar beginnt, auf das spiralig gestellte, allmählich größer werdende Schuppen folgen. Die Blüte selbst ist umschlossen von drei dekussierten Schuppenpaaren und sieht nur mit ihrer Spitze zwischen ihnen hervor. Diese Spitze zeigt eine punktförmige Öffnung, die Mikropyle. Wir orientieren den Sproß in ganz bestimmter Weise, um einen

[1]) E. Strasburger, Koniferen und Gnetaceen, 1872, S. 2. Vgl. dazu auch A. W. Dupler, Bot. Gaz., Bd. LXIX, 1920, S. 492, betr. Taxus canadensis.

medianen Längsschnitt auszuführen. Dieser muß durch die Mediane des vorletzten, unter der Blüte befindlichen Schuppenpaars gehen. Wir wählen für die Untersuchung etwas ältere, bereits bestäubte Blüten, von etwa Ende April, weil diese bequemer zu schneiden und in mancher Beziehung auch lehrreicher sind. Ist die Richtung des Schnittes entsprechend eingehalten worden, so sieht das Bild wie die Figur 223 *C* aus. Da sehen wir denn deutlich, daß die Blüte nicht terminal an dem Primansprößchen steht, dieses vielmehr seine Entwicklung abgeschlossen hat, nachdem es in der Achsel des obersten Niederblattes ein Sekundansprößchen bildete. Dieses letztere ist es, das in der Blüte gipfelt, nachdem es zuvor drei dekussierte Schuppenpaare erzeugt hat. Seitlich von der Insertion des Sekundansprößchens ist der zur Seite gedrängte Vegetationskegel (*v*) des Primansprößchens zu sehen (rechts in der Figur). Hin und wieder bildet auch das vorletzte Niederblatt des Primansprößchens ein mit einer Blüte abschließendes Sekundansprößchen. In seltenen Fällen wächst auch, wie wir gesehen (*B*), das Primansprößchen, Laubblätter bildend, weiter. Die Schuppenpaare, die der Blüte vorangehen, sind als ihre Vorblätter anzusehen; die Blüte selbst ist auf eine Samenanlage reduziert. Eine solche ist nämlich das terminale Gebilde, das wir am Gipfel des Sekundansprößchens sehen. Wir unterscheiden an ihm im Längsschnitt eine einfache Hülle, das Integument (*i*), das oben eine schmale Öffnung, die Mikropyle (*m*), frei läßt, und im Innern den sog. Knospenkern, den Nucellus (*n*). In dessen Grund ist nur in besonders günstigen Fällen, am ehesten nach Kalibehandlung, eine größere Zelle (*e*) als Anlage des Embryosacks zu erkennen[1]). Wie der Pollensack einem Mikrosporangium, so entspricht der Nucellus der Samenanlage einem Makrosporangium; wie die Pollenkörner den Mikrosporen, so der Embryosack einer Makrospore. Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen[2]) haben bedeutende Übereinstimmungen in der Anlage dieser Gebilde aufgedeckt, doch gleichzeitig gezeigt, daß eine fortschreitende Reduktion die Vorgänge trifft, die bei den Phanerogamen zur Anlage der Makrospore führen. Das Integument ist mit dem Indusium der Pteridophyten verglichen worden. — Am Stiel der Samenanlage ist bei Taxus ein kleiner Gewebewall (*a*) zu sehen, der lange Zeit, bis in den Juni hinein, sich nicht verändert, später aber zu wachsen anfängt und den hochroten, im Gegensatz zum Samen und Laub nicht giftigen Arillus bildet, der im Herbst den reifenden Samen umgibt. — An der bereits bestäubten Blüte, die wir in Untersuchung nahmen, können wir am Scheitel des Nucellus, an der sog. Knospenwarze, die Pollenkörner liegen sehen. Diese haben je einen kurzen Schlauch in das Gewebe der Knospenwarze getrieben. Die Pollenkörner liegen hier auf der Außenfläche der papillösen Knospenwarze, während bei verschiedenen anderen Taxineen und deren nahen Verwandten die Knospenwarze sich zu einer sog. Pollenkammer aushöhlt[3]), um die Pollenkörner aufzunehmen. — Wollen wir die Einrichtung kennenlernen, welche die Pollenkörner in die Samenanlage bringt, so müssen wir die Beobachtung während der Bestäubungszeit im Freien anstellen[4]). Betrachtet man um die Zeit, da die Pollenkörner aus den

[1]) E. STRASBURGER, Angiosp. u. Gymnosp., 1879, S. 109.

[2]) E. STRASBURGER, Ebenda; ferner K. GOEBEL, Bot. Ztg., XXXIX. Jahrg., 1881, Sp. 681; J. M. COULTER and CH. J. CHAMBERLAIN, l. c. 1910. Vgl. im übrigen, was Taxus betrifft, das Nähere bei E. STRASBURGER, E. HAECKEL-Festschrift, 1904, S. 1.

[3]) E. STRASBURGER, Jenaische Zeitschr. f. Naturw., Bd. VI, 1871, S. 250.

[4]) E. STRASBURGER, Ebenda, S. 250; Konif. u. Gnet., 1872, S. 265.

Pollensäcken entlassen werden, die weibliche Pflanze, so kann man bei einzelnen Blüten an der Mikropyle einen kleinen Flüssigkeitstropfen beobachten[1]). In diesem Tropfen fangen sich die durch den Wind getragenen Pollenkörner ein und werden am Abend mit dem Tropfen zugleich eingesogen.

Die Pollenkörner von Taxus teilen sich erst auf dem Nucellus, um eine größere, negative und eine kleinere, generative Zelle zu bilden. Die vegetative Zelle wächst zu dem Pollenschlauch aus, den man auf Längsschnitten durch den Nucellus in diesem verfolgen kann. Die Intine des Pollenkorns bildet den Schlauch, die Exine wird dabei gesprengt und von dem Pollenkorn abgestreift. An entsprechend fixierten Objekten kann man feststellen, daß die generative Zelle des Pollenkorns eine nochmalige Teilung erfährt, die vordere der beiden Zellen sich von der anderen loslöst und in den Pollenschlauch einwandert, in dem man sie, nahe der Spitze, neben dem vegetativen, dem Pollenschlauch angehörenden Zellkern vorfindet. Diese generative Zelle ist bestimmt, weiterhin die Befruchtung des Eies zu vollziehen[2]).

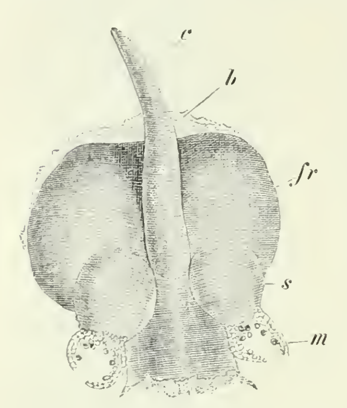


Fig. 224. Pinus silvestris. Fruchtschuppe *fr* mit den beiden Samenanlagen *s* und dem Kiel *c*. Dahinter die Deckschuppe *b*. An den Samenanlagen der Integumentrand in zwei Fortsätze *m* ausgewachsen. Vergr. 7.

Die Kiefer, Pinus silvestris, ist einhäusig (monözisch), so daß wir männliche und weibliche Blüten auf derselben Pflanze finden. — Ihre „Zapfen", die als je eine weibliche Blüte, oder auch als ein von zahlreichen weiblichen Blüten gebildeter Blütenstand gedeutet werden können[3]), bergen die Samenanlagen, die auf schuppenartigen Gebilden befestigt sind. Die kleinen Zapfen nehmen einzeln oder zu mehreren die Spitze gleichalteriger Triebe ein. Sie stehen in den Achseln ebensolcher Deckblätter, wie die tiefer inserierten, zweinadeligen Kurztriebe; ihre Lage, oben am Sproß, entspricht aber jener zweigbildender Langtriebe. Die kleinen Zapfen sind meist Ende Mai empfängnisfähig und, trotz relativ geringer Größe, infolge ihrer braunroten Färbung leicht sichtbar. Sie stehen aufrecht an kurzen Stielen. Ihr Stiel ist von braunen Schuppen bedeckt. Zur Untersuchung kann auch hier mit Glyzerin behandeltes Alkoholmaterial dienen. Bringen wir einzelne, von der Zapfenachse mit dem Skalpell abgelöste Teile unter das Präpariermikroskop und isolieren sie mit den Nadeln, so können wir feststellen (Fig. 224), daß in den Achseln zarter, verkehrt eiförmiger, am Rand etwas gefranster Deckschuppen (*b*) ähnlich gestaltete, doch fleischig angeschwollene, glattrandige, auf der Innenfläche mit einem mittleren, vorspringenden Kiel (*c*) ver-

[1]) Näheres bei K. Fujii, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXI, 1903, S. 211.

[2]) Wl. Belajeff, l. c. 1891; E. Strasburger, l. c. 1871 und 1872; J. M. Coulter and Ch. Chamberlain, l. c. 1910.

[3]) S. u. a. St. Herzfeld, Verh. d. k. k. zool.-bot. Ges., Wien, Bd. LXV, 1915. Sitzber. S. 225 ff.

sehene Fruchtschuppen (*fr*) stehen. Rechts und links am Grund der Fruchtschuppe finden wir je eine, mit der Mikropyle nach unten und nach der Seite gekehrte Samenanlage (*s*). Sie besitzt ein einfaches Integument, dessen Rand sich an der vorderen Öffnung, der Mikropyle, rechts und links in je einen Lappen (*m*) fortsetzt. Deckschuppe und Fruchtschuppe sind am Grund verwachsen und trennen sich daher zusammenhängend von der Zapfenachse. — Daß der Zapfen der Abietineen, und anderer zapfenbildender Koniferen, entweder als einzelne Blüte oder als Blütenstand aufgefaßt wird, hängt mit der verschiedenen Deutung zusammen, die man der Fruchtschuppe gibt[1]). Diese wird nämlich entweder als ein metamorphosierter, mit seinem Deckblatt z. T. verwachsener Achselsproß aufgefaßt, oder als placentaler Auswuchs der als Fruchtblatt oder Karpell gedeuteten Deckschuppe. Im ersten Fall würde es sich somit um je einen, zwei Samenanlagen tragenden Sproß in der Achsel jedes Deckblattes, im zweiten um je eine ihrem Fruchtblatt entspringende, zwei Samenanlagen auf der Oberseite tragende Placenta handeln. Im ersten Fall hätte man also den Zapfen als eine aus vielen fertilen Achselsprossen aufgebaute Infloreszenz, im zweiten als eine einzige, zahlreiche Fruchtblätter führende Blüte aufzufassen. — Der eigenartige Bau der Fruchtschuppe hängt mit den Bestäubungseinrichtungen zusammen[2]), die nur an frischem Material zur Bestäubungszeit sich verfolgen lassen. Sobald die männlichen Blüten zu stäuben beginnen, kann man eine Verlängerung der Zäpfchen feststellen, durch welche die Fruchtschuppen samt den zugehörigen Deckschuppen auseinander gerückt werden. Der Blütenstaub vermag nun auf die emporgerichteten Fruchtschuppen zu gelangen, gleitet an ihnen hinab und gelangt, durch den Kiel geführt, zwischen die beiden Fortsätze des Integuments. Diese Fortsätze rollen sich später ein und führen so die Pollenkörner in die Mikropyle bis zur Kernwarze. Nach vollzogener Bestäubung schließen die fortwachsenden Fruchtschuppen bald wieder mit ihren Rändern zusammen und diese werden durch ineinanderwachsende Papillen verbunden[3]). Die Deckschuppen entwickeln sich nicht weiter, auch nicht der Kiel an der Fruchtschuppe, der nunmehr unnütz geworden ist. Die rote Farbe des Zapfens geht in braun und schließlich in grün über; der Zapfen senkt sich langsam und nimmt zuletzt eine hängende Lage an.

Wir wollen nunmehr auch die weiteren Veränderungen ins Auge fassen, die sich in der bestäubten weiblichen Samenanlage der Koniferen abspielen. Zur Zeit der Bestäubung ist der Embryosack in der Samenanlage nur in erster Anlage vorhanden und nicht leicht aufzufinden; der Längsschnitt durch die Samenanlage zeigt den Nucellus als kleinen, von dem einfachen Integument umhüllten Höcker. Die weitere Ausbildung der Samenanlage vollzieht sich bei den Nadelhölzern verschieden rasch, je nachdem ein kürzerer oder längerer Zeitraum den Befruchtungsvorgang von der Bestäubung bei ihnen

---

[1]) Vgl. u. a. St. Herzfeld, Österr. bot. Zeitschr., Bd. LXIV, 1914, S. 321 ff.; ferner Dieselbe, l. c. 1915.

[2]) E. Strasburger, Jen. Zeitschr. f. Naturwiss., Bd. VI, 1871, S. 251; Konif. u. Gnet., 1872, S. 267.

[3]) K. Frhr. v. Tubeuf, Die Haarbildungen der Koniferen, 1896.

trennt. Bei der Kiefer findet die Befruchtung im nächstfolgenden Jahr, mehr als 13 Monate nach der Bestäubung statt; demgemäß beginnt die Weiterentwicklung der Samenanlage erst in dem auf die Bestäubung folgenden Frühjahr, muß somit an einjährigen Zäpfchen studiert werden. Bei der Fichte, Picea excelsa, liegen Bestäubung und Befruchtung nur etwa 6 Wochen auseinander; es stellt sich die Weiterentwicklung der Samenanlagen demgemäß gleich nach der Bestäubung ein. Da die Fichte vorteilhafter für die Untersuchung ist, so wollen wir uns weiter an sie halten. Entsprechende Entwicklungszustände in Alkohol müssen uns zur Verfügung stehen. Wir wählen sofort einen Zustand aus, in dem die Eier schon fertig ausgebildet und empfängnisreif sind. Dieser Zustand wird bei der Fichte in unseren Breiten um Mitte Juni erreicht, die Befruchtung alsdann im Lauf weniger Tage vollzogen. Vor Beginn dei mikroskopischen Untersuchung unterrichten wir uns über das Aussehen der ganzen Schuppe. Diese ist verkehrt eiförmig, zeigt unten an ihrer Innenfläche die beiden Samenanlagen, auch schon die Umrisse der „Flügel", die sie decken und sich später mit dem reifen Samen von der Fruchtschuppe ablösen werden¹). Unten an der Außenfläche der Fruchtschuppe ist noch die jetzt relativ sehr klein erscheinende Deckschuppe wiederzufinden. — Die Samenanlagen sind schlecht zu schneiden, wenn sie nicht zuvor mindestens 24 Std. in einem Gemisch von gleichen Mengen Alkohol und Glyzerin gelegen haben. Die zu schneidenden Samenanlagen lösen wir von der Fruchtschuppe ab. Wir stellen zwischen Daumen und Zeigefingei (s. S. 345) Längsschnitte durch sie her, da aber das Integument ziemlich hart ist, modifizieren wir weiterhin unser Verfahren. Wir schneiden die Samenanlagen mit der Schere in etwa halber Höhe durch, fassen hierauf die obere, d. h. die den Scheitel der Samenanlage in sich schließende Hälfte zwischen die Finger und ziehen an der Schnittfläche mit der Pinzette den Nucellus heraus. Durch diesen so befreiten Nucellus lassen sich nunmehr die Längsschnitte sehr gut ausführen. Wir untersuchen sie in Gly-

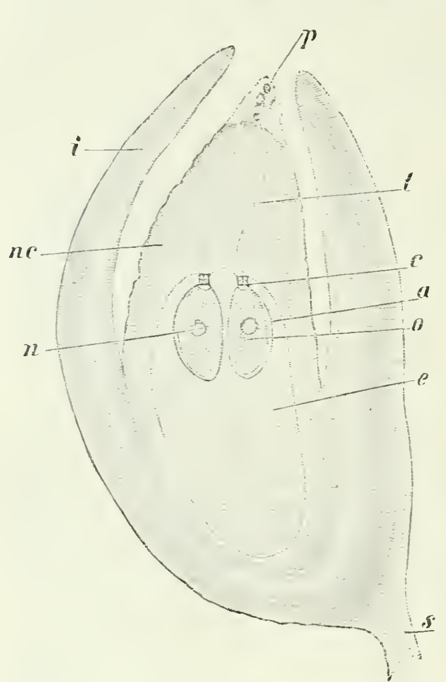


Fig. 225. Picea excelsa. Medianer Längsschnitt durch die empfängnisreife Samenanlage. *e* Embryosack, mit Endosperm (Prothallium) erfüllt; *a* Bauchteil, *c* Halsteil eines Archegoniums; *n* Eikern; *nc* Knospenkern oder Nucellus; *p* Pollenkörner auf und in der Knospenwarze; *t* Pollenschläuche, die den Nucellus durchsetzen; *i* Integument; *s* Samenflügel. Vergr. 9.

¹) K. Frhr. v. TUBEUF, Forst. naturwiss. Zeitschr., 1893.

zerin. Doch zunächst betrachten wir den Längsschnitt einer ganzen empfängnisreifen Samenanlage bei schwacher Vergrößerung. Wir hatten sie senkrecht zu ihrer Insertionsfläche geschnitten; sie liegt somit in medianer Längsansicht vor (Fig. 225). Wir sehen an ihr: das Integument (*i*), das sich später zur Samenschale ausbilden wird und in halber Höhe des Nucellus sich von diesem trennt; am Scheitel des Nucellus die Knospenwarze, welche Pollenkörner (*p*) trägt und diese z. T. außen ihr aufliegend, z. T. in ihr Gewebe eingesenkt zeigt; auch von diesen Pollenkörnern ausgetriebene Pollenschläuche (*t*), die den oberen Teil des Knospenkerns durchsetzen, um zu dem Embryosackscheitel zu gelangen; den Embryosack (*e*) von elliptischem Umriß, mit dem als Endosperm bezeichneten Prothalliumgewebe ausgefüllt; die Archegonien, deren Bauchteil (*a*) leicht, deren Halsteil (*c*) schwerer zu erkennen ist; im Innern der Archegonien je ein Ei (*o*), das an dem Alkoholmaterial durch seine gelbbraune Färbung auffällt und in der Mitte einen großen Kern (*n*) birgt: endlich unten an der Samenanlage den Ansatz des Flügels (*s*). Der Halsteil des Archegoniums wird von 2—4 Stockwerken von Zellen gebildet. Unter dem Halsteil ist eine kleine, vom Ei abgegrenzte Zelle zu finden (Fig. 226, *A*, *cl*), die der Bauchkanalzelle der Archegoniaten entspricht. Der Bauchteil des Archegoniums ist von einer Schicht flacher, inhaltsreicherer „Deckzellen" umhüllt. — Um uns über Anzahl und Lage der Archegonien zu unterrichten, führen wir aufeinanderfolgende Querschnitte durch den oberen Teil der Samenanlage aus. Wir überzeugen uns auf diese Weise, daß 3—5 Archegonien, im Kreise angeordnet, den Embryosackscheitel einnehmen. An solchen Schnitten können wir auch, falls sie den Halsteil der Archegonien streiften, feststellen, daß dieser eine 6—8-zellige Rosette darstellt. Ist unser Material zur Befruchtungszeit eingelegt worden, so können wir evtl. einzelne Pollenschläuche bis

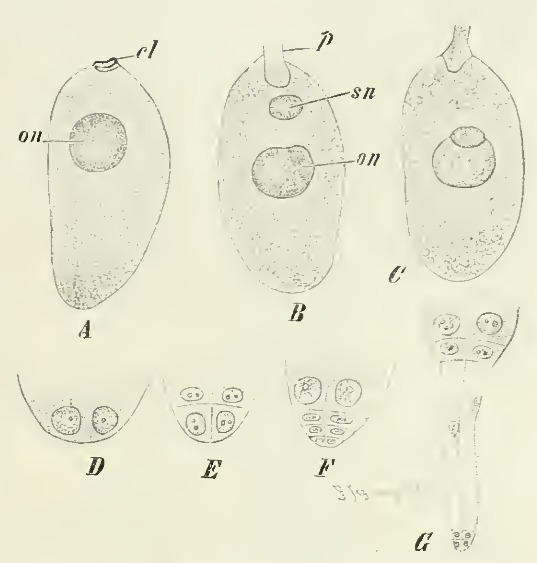


Fig. 226. Picea excelsa. *A* ein reifes Ei mit Zellkern *on* und Bauchkanalzelle *cl*. *B* ein Ei während der Befruchtung, *sn* einer der eingedrungenen generativen Kerne, *on* der Eikern, *p* die Pollenschlauchspitze. *C* ein Ei während der Befruchtung, die Kopulation von gener. Kern und Eikern zeigend. *D* die 4 Zellkerne in dem vom Halsteil abgekehrten Ende des Eies, 2 von ihnen sind nur zu sehen. *E* die Kerne haben sich von neuem geteilt, 4 Kerne liegen jetzt in dem Eiende, 4 fallen dem Eikörper zu. *F* 4 Stockwerke von Zellen sind im Eiende gebildet. *G* das mittlere Zellstockwerk hat sich gestreckt und das untere, dessen Zellen sich unterdes schon einmal geteilt haben, in das Endosperm geführt. Nach Alkohol-Material. Vergr. 45.

an ein Ei verfolgen und in deren unterem Ende zwei ungleich große, vom Plasma der generativen Zelle umgebene Kerne erkennen, die durch Teilung aus dem ursprünglichen Kern der generativen Zelle hervorgegangen sind[1]).

Die Pollenschlauchspitze bei Picea ist fein porös, bei Pinus-Arten zeigt sie einen deutlichen Tüpfel. Von den beiden generativen Kernen im Pollenschlauch ist der vorangehende, größere, allein bei der Befruchtung wirksam. In besonders günstigen Fällen kann man diesen Kern, der kleiner und dichter als der Eikern ist, in dem oberen Teil des Eies (Fig. 226 *B*, *sn*) oder in Vereinigung mit dem Eikern sehen (*C*). Der zweite generative Kern, der ebenfalls in die Eizelle eingeführt wird, geht dort zugrunde. Aus dem Keimkern gehen zunächst 4 Kerne hervor, die man alsbald in dem vom Hals abgekehrten Ende des Eies in einer Ebene angeordnet sieht (*D*). Diese Kerne wiederholen die Zweiteilung nach dem Ei-Innern zu. Zwischen den so entstandenen 8 Kernen werden nun sowohl Quer- wie Längswände eingeschaltet und damit ein 8-zelliger „Proembryo" gebildet (*E*), dessen 4 obere Zellen jedoch gegen die Keimzelle hin offen und mit dem Keimzellplasma in Verbindung bleiben. Diese 4 oberen Zellen teilen sich zunächst, darauf die 4 unteren. Damit erhält der Proembryo 4 Stockwerke von je 4 Zellen (*F*). Während das oberste Stockwerk weiterhin den Abschluß der Keimzelle bildet, beteiligen sich die 3 übrigen an der Entwicklung des definitiven Embryos in der Weise, daß die Zellen der mittleren sich zu dem früher als „Embryonalschläuche" bezeichneten Embryoträger oder „Suspensor" strecken, der die vom Halsteil entferntesten Zellen in das Prothalliumgewebe (Endosperm) hineinführt (*G*). Aus diesen letzteren Zellen geht weiterhin die Embryonalanlage hervor. Sie zeichnen sich von Anfang an durch ihren reichen Inhalt aus und teilen sich alsbald weiter.

So viel, wie unsere Figur zeigt, läßt sich Schnitten abgewinnen, die durch Alkoholmaterial aus freier Hand hergestellt werden. Das Färben dieser immerhin ziemlich dicken Schnitte fördert nicht die Untersuchung. Es genügt, sie in Glyzerin zu beobachten, wo sie durchscheinender werden. Vielfach ist es von Vorteil, die Eier mit Nadeln unter dem Präpariermikroskop aus ihren Archegonien zu befreien. Für eingehende Untersuchung müssen entsprechend fixierte, in Mikrotomschnitte zerlegte und gut gefärbte Präparate dienen. Zum Fixieren bewährte sich auch hier am besten das stärkere Chrom-Osmium-Essigsäure-Gemisch (S. 64), sehr gut auch Sublimat-Essigsäure[2]) (eine 6—7-proz. Lösung von Sublimat in Aq. dest. mit 5 % Eisessig versetzt); zum Färben Safranin-Gentianaviolett-Orange für Eier, Eisen-Hämatoxylin für die im Pollen sich abspielenden Vorgänge.

Von hohem, theoretischem Interesse ist es, daß bei den Cycadeen und Ginkgo die generativen Zellen des Pollenschlauches, wie bei den Pteridophyten, noch als bewegliche Spermatozoiden ausgebildet werden und als solche aktiv in das Ei eindringen[3]).

[1]) Die umfangreiche Literatur über den Befruchtungsvorgang bei den Gymnospermen wäre u. a. in J. M. COULTER and CH. J. CHAMBERLAIN, Morphology of Spermatophytes, I. Morphology of Angiosperms, 1903, II. Morphology of Gymnosperms, 1910, zu vergleichen.

[2]) W. C. COKER, Bot. Gaz., Bd. XXXIII, 1902, S. 90.

[3]) S. IKENO, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXII, 1898, S. 557; S. HIRASE, Journ. Coll. Sc., Tokyo, Bd. XII, 1898, S. 105; H. J. WEBBER, Bot. Gaz., Bd. XXIII, 1897.

Um die Keimentwicklung bei der Fichte weiter zu verfolgen[1]), verwenden wir entweder frisches Material, das wir etwa alle 8 Tage untersuchen, oder Material, das in gleichen Zeitintervallen in Alkohol ein-

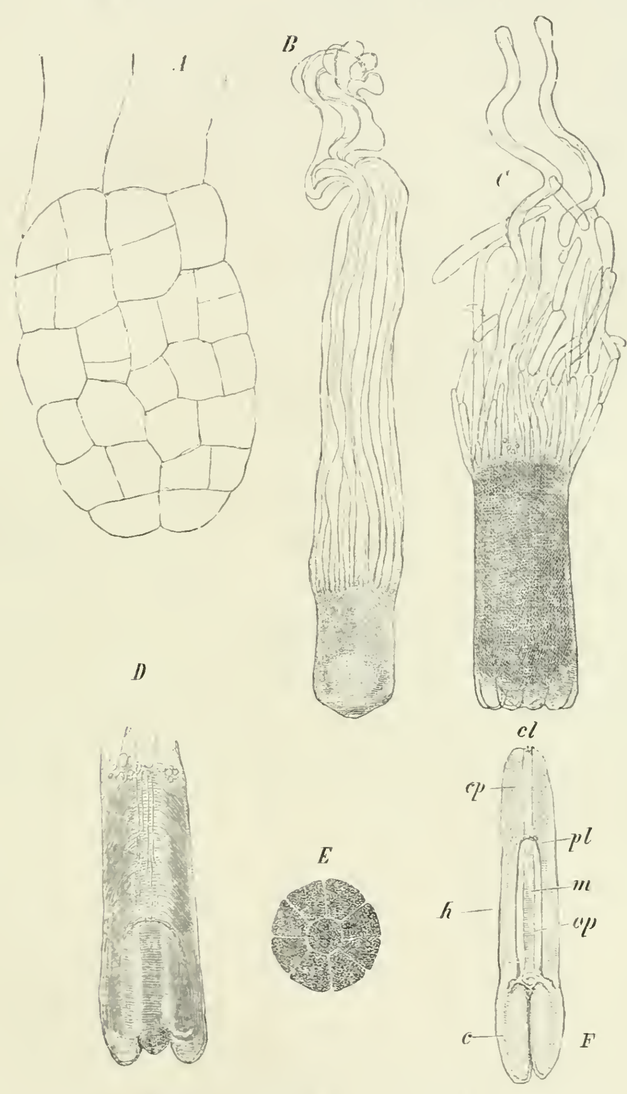


Fig. 227. Picea excelsa. *A* junge Keimanlage im optischen Durchschnitt. Vergr. 240. *B* ältere Embryonalanlage im optischen Durchschnitt. Die Anlage der Wurzel und des Vegetationskegels des Stammes bereits vollzogen. Vergr. 27. *C* Halbreifer Keim von außen. *D* im Längsschnitt, *E* in Scheitelansicht. Vergr. 27. *F* Längsschnitt durch den reifen Keim, *c* Keimblätter, *h* hypokotyles Glied, *pl* Pleromscheitel, *cp* Wurzelhaube, *cl* ihre Mittelsäule, *m* Mark, *op* Prokambiumring im hypokotylen Glied. Vergr. 10.

S. 453; Bd. XXIV, 1897, S. 16 u. 225; U. S. Dept. of Agricult. Bur of Plantindustry, Bull. 2, 1901. Weitere Literatur in J. M. COULTER and CH. J. CHAMBERLAIN, l. c. 1910. Dazu noch CH. J. CHAMBERLAIN, Bot. Gaz., Bd. LXI, 1916, S. 353.

[1]) E. STRASBURGER, Konif. u. Gnet., 1872, S. 298; Ang. u. Gymn., 1879, S. 145; J. M. COULTER and CH. J. CHAMBERLAIN, l. c. 1910; dort die übrige Literatur.

gelegt wurde. Solches Material kommt allein in Betracht, wenn die Untersuchung nicht auf längere Zeiträume verteilt werden soll. — Die Embryonalanlage, die wir zuvor (Fig. 226 *G*) verlassen haben, nimmt rasch durch abwechselnd perikline, antikline und radiale Wände an Masse und Zellenzahl zu und erhält das Aussehen der Figur 227 *A*. Diese Teilungsfolge schließt von Anfang an die Existenz einer Scheitelzelle aus. Nachdem die Embryonalanlage weiter an Größe zugenommen hat, fangen ihre hinteren Zellen an, schlauchförmig auszuwachsen und addieren sich zu dem immer massiger werdenden Suspensor. Die Embryonalanlage selbst nimmt zylindrische Form an, wird undurchsichtig und setzt dann scharf von dem durchsichtigen Suspensor ab. Hat der undurchsichtige Teil eine Länge von etwa 0,5 mm erreicht, so kann man in seinem Innern, nachdem man ihn mit Kali, Kreosot oder Chloralhydrat durchscheinend gemacht hat, die Anlage der Wurzel erblicken. Diese entsteht in etwa 0,15 mm Entfernung vom Scheitel und zwar durch perikline Teilungen innerhalb einer Schicht halbkugelig angeordneter Zellen (Fig. 227 *B*). Die Wurzelanlage oder Radicula schließt fortan die Keimanlage an deren unterem Rand ab. Alsbald wölbt sich der Scheitel der Embryonalanlage vor (*B*), um den Vegetationskegel des Stammes zu bilden. Um diesen erheben sich hierauf in größerer Anzahl die Anlagen der Keimblätter oder Kotyledonen (*C*, *D* und *E*). Hiermit sind alle Teile am Keim angelegt und brauchen nur zu wachsen, um das Aussehen des fertigen Zustandes zu erreichen. — Wir haben bisher nur die stärker sich entwickelnde, schließlich allein vorhandene Keimanlage ins Auge gefaßt, tatsächlich geben aber mehrere, wenn nicht alle Archegonien je einer Keimanlage den Ursprung. Alle diese Anlagen wachsen in der Längsachse des Prothalliumkörpers abwärts; die, welche einen Vorsprung vor den anderen hat, und der somit die in dem Prothalliumgewebe aufgespeicherten Nahrungsstoffe zunächst zugute kommen, entwickelt sich stärker und verdrängt schließlich alle anderen. Zu der Zeit, wo die Kotyledonen sich zeigen, stößt die Embryonalanlage bereits mit ihrer Spitze an den Grund des Embryosacks an. Bei weiterem Wachstum muß nun das Radikularende wieder aufwärts geschoben werden und erreicht schließlich die Stelle, von der die ganze Entwicklung ausging. Der Suspensor wird nach oben gedrängt und schließlich zu einem Knäuel reduziert. Seine Zellreihen trennen sich dabei leicht voneinander (*C*).

Während so bei Picea (wie auch bei Abies, Larix und Pseudotsuga) aus jedem befruchteten Archegonium stets nur ein einheitlicher Embryo hervorgeht, spalten sich bei Pinus und Cedrus gleichmäßig während des ganzen Verlaufs der Embryo-Entwicklung, bei Tsuga in vorgeschritteneren Stadien derselben, die Embryo-Anlagen, so daß z. B. bei Pinus jedes der befruchteten Archegonien vier Embryonen liefert. Der am besten ernährte verdrängt jedoch sämtliche anderen, so daß der fertig ausgebildete Samen schließlich in der Regel nur einen Embryo führt[1]).

Der Samen der Fichte reift im Oktober. Er löst sich dann mitsamt dem Flügel leicht von der Fruchtschuppe ab. Die Zellen der Samenschale sind, wie entsprechende Quer- und Längsschnitte lehren, fast bis zum Schwinden ihres Lumens verdickt. Ein Teil des Prothalliumgewebes ist als „Sameneiweiß" oder Endosperm, dicht mit Reservestoffen erfüllt, im Samen erhalten geblieben. Es bildet einen

[1]) S. u. a. J. T. Buchholz, Bot. Gaz., Bd. LXVI, 1918; S. 185 ff., und Derselbe, Ebenda, Bd. LXIX, 1920, S. 153, ferner Amer. Journ. of Bot., 1920, S. 125 ff.

den Keim umschließenden Sack. Dieser Sack ist an seinem Mikropylende offen, und hier setzt das Wurzelende des Keims an die Reste des verdrängten Nucellus an. Der Keim läßt sich leicht aus dem der Länge nach aufgeschnittenen Samen herausnehmen. Er erscheint als eine, nach dem Kotyledonarende zu allmählich dicker werdende Walze. Infolge seiner Anfüllung mit Reservestoffen ist er weiß und undurchsichtig wie das Sameneiweiß. Wir stellen einen medianen Längsschnitt durch diesen Keim zwischen den Fingern her und legen ihn in mit etwas Alkohol verdünnte Karbolsäure ein. Das Bild wird sehr klar, so daß man jede Zellreihe verfolgen kann. Wir sehen (Fig. 227 *F*), daß die Keimblätter (Kotyledonen) (*c*) nicht ganz ein Drittel der ganzen Länge des Keims ausmachen; am Grund zwischen ihnen ist der Vegetationskegel des Stengelchens zu sehen. Das Stengelchen (Cauliculus) selbst, das als hypokotyles Glied (*h*) oder Hypokotyl bezeichnet wird, setzt sich nach hinten ohne scharfe Grenze in das Würzelchen (Radicula) fort. Dieses ist vornehmlich durch einen Vegetationskegel vertreten, der sich uns deutlich im Innern des Keimkörpers als Pleromscheitel (*pl*) der Wurzel zu erkennen gibt, während die Zellreihen der Rinde des hypokotylen Gliedes sich in die parabolischen Schichten der Wurzelhaube (*cp*) fortsetzen, ein Verhalten, das bei allen Wurzeln der Gymnospermen wiederkehrt, insofern wir dort die Zellreihen der Rinde des Wurzelkörpers in die Zellschichten der Wurzelhaube direkt übergehen sehen. Die Wurzelhaube wird in der Längsachse von einer sich hell markierenden Säule (*cl*) tafelförmiger, in geraden Reihen angeordneter Zellen durchsetzt. Im hypokotylen Glied beginnt sich bereits das Gewebe des Marks (*m*) zu sondern, und in seinem Umkreis die gestreckten Zellen des Prokambiumrings (*op*), in dem die Leitbündel auftreten werden. Diese Zellen lassen sich bereits auch eine kurze Strecke weit in die median getroffenen Keimblätter hinein verfolgen. — So sind in dem Embryo die wesentlichen Teile der zukünftigen Pflanze schon angelegt.

XXVIII. Abschnitt.

Das Androeceum der Angiospermen. Membranstoffe des Pollens. Öffnungsmechanismus der Antheren. Inhalt des Pollenkorns. Aufhellungsmittel.

Membranstoffe der Pollenmutterzellen. Schnitte durch Pollenkörner. Pollenschlauchkulturen. Chemotropismus und andere Tropismen der Pollenschläuche.

Untersuchungsmaterial.

Hemerocallis fulva, Blüten und Blütenknospen, letztere in allen Entwicklungszuständen, frisch oder in Alkohol. An Stelle von Hemerocallis können Lilium oder Funkia, Agapanthus oder Iris, Tulipa oder Hyacinthus treten. Tradescantia virginica, frische Blüten oder Blüten von Leucojum oder anderen Liliifloren. Oenothera biennis, frische Blüten, oder Epilobium, oder Fuchsia. Althaea rosea oder eine andere Malvacee, frische Blüten. Cucurbita, frische männliche Blüten. Calluna vulgaris, oder Erica, Azalea bzw. Rhododendron, frische Blüten. Frische Blüten von Acacia.

Frische Blüten von Epipactis palustris, Gymnadenia conopea, Arrhenatherum elatius, Mirabilis Jalapa, Allium, Tulipa, Leucojum, Narcissus, Convallaria, Iris, Torenia, Gloxinia, Lathyrus u. a.

Wichtigste Farbstoffe, Reagentien, Untersuchungsflüssigkeiten, Kulturmedien.

Methylenblau. — Safranin. — Konz. Schwefelsäure. — 25-proz. Chromsäure. — Karbolsäure. — Chloralhydrat. — Nelkenöl. — Zitronenöl. — Methylgrün-Essigsäure. — Zuckerlösungen. — Zucker-Gelatine. — Zucker-Agar.

Sämtliche Staubblätter einer angiospermen Blüte bilden das Androeceum[1]). Jedes einzelne Staubblatt oder Staubgefäß (Stamen) besteht aus dem meist fadenförmigen Träger, dem Filament, und der Anthere. Diese wird von 2 Längshälften gebildet, die durch den oberen Teil des Filaments, das sog. Konnektiv, getrennt werden. Es empfiehlt sich, das Konnektiv mit zur Anthere zu rechnen. In das Gewebe jeder Antherenhälfte sind für gewöhnlich 2 Pollensäcke (Pollenfächer, Antherenfächer, Staubfächer) eingesenkt, die zusammen einen

[1]) Zu Staubblatt und Pollen vgl. H. v. Mohl, Über den Bau und die Formen der Pollenkörner, 1834; Fritsch, Über den Pollen. Mém. d. sav. étrang., 1836; C. Nägeli, Zur Entwicklungsgesch. d. Poll. bei den Phan., 1842; H. Schacht, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. II, 1860, S. 109; E. Warming in Hansteins bot. Abh., Bd. II, Heft 2; E. Strasburger, Befr. u. Zellt., 1878, S. 15, und Bau der Zellhäute, 1882, S. 86; Fr. Elfving, Jen. Zeitschr. f. Naturw., Bd. XIII, 1879, S. 1; K. Goebel, Grundzüge d. Syst. usw., S. 398; K. Goebel, Organographie, 1901, S. 781, bzw. den entspr. Teil im bisher (Anf. Januar 1923) noch nicht erschienenen Band III der 2. Aufl. desselben Werks; J. M. Coulter and Ch. J. Chamberlain, Morphology of Angiosperms, 1903; R. v. Wettstein, Handb. der syst. Bot., 2. Aufl., 1911, S. 435 ff.; Fitting, Jost, Schenck, Karsten, Lehrbuch der Botanik, 15. Aufl., 1921, S. 476, 481.

vorspringenden Wulst, die Theca, bilden. Jeder Pollensack entspricht einem Mikrosporangium. Wir orientieren uns zunächst an dem Staubblatt irgendeiner großblütigen Liliacee, beispielsweise der in den Gärten allgemein kultivierten Taglilie, Hemerocallis fulva. Das gelb gefärbte Filament ist sehr lang, wird nach oben zu dünner und spitzt sich sehr stark an der Insertionsstelle der Anthere zu. Letztere ist braun, beweglich (versatil) am Filament befestigt. Das Konnektiv ist an der Außenfläche der Anthere als dünner Streifen zwischen den beiden Antherenhälften zu verfolgen. — Der reife Blütenstaub (Pollen), trocken auf dem Objektträger betrachtet, zeigt die Gestalt von Kaffeebohnen. Er erscheint gelb, mit netzförmigen Leisten auf der Oberfläche verziert. Lassen wir während der Beobachtung Wasser vom Deckglasrand aus zutreten, so sehen wir, daß jedes Pollenkorn, sobald es benetzt wird, seine Falte ausgleicht, sich an der entsprechenden Seite stark vorwölbt und die Gestalt eines einseitig abgeflachten Ellipsoids annimmt. Der vorgewölbte Membranteil ist ohne Leisten, erscheint weiß und gequollen[1]). Die braune, netzartig verzierte Haut setzt meist mit scharfen Rändern gegen ihn ab. Die braune Haut ist die Außenhaut des Pollenkorns oder Exine, die gequollene, weiße Haut ist die Innenhaut des Pollenkorns oder Intine. Beim Quellen des Pollenkorns wurde die Exine an der eingefalteten Seite gesprengt, und die stark verdickte Intine trat hervor. An der entgegengesetzten Seite ist die Intine nur in Gestalt eines zarten Häutchens entwickelt. Den Schutz des Pollenkorns besorgt die Exine, die das eingefaltete Pollenkorn vollständig deckt. — Zwischen den Pollenkörnern sieht man im Präparat orangerotes Öl verteilt; es haftet auch der Oberfläche der Körner an, ihnen im trockenen Zustand die gelbe Färbung verleihend. Der Inhalt des Pollenkorns erscheint grau, feinkörnig. Nach kurzer Zeit, während der das Pollenkorn sich fort und fort langsam vergrößert hat, platzt es und entleert seinen Inhalt wurmförmig in das umgebende Wasser. In Zuckerlösung von hinreichender Konzentration runden sich die Körner ab, ohne zu platzen, und können unversehrt beobachtet werden. — Lassen wir konz. Schwefelsäure auf die Pollenkörner einwirken, so wird die Intine sofort gelöst, die Exine widersteht; sie besteht aus einem den Kutinen mikrochemisch in mancher Beziehung ähnlichen, in mancher jedoch von ihnen stark abweichenden Stoff[2]), den man „Exinin" genannt hat[3]). Fügen wir den im Wasser befindlichen Pollenkörnern wässr. Methylenblaulösung zu, so nimmt die Exine eine matt grünblaue, die vorgequollene Intine eine leuchtend blaue, etwas ins Violette spielende Färbung an. Wenden wir statt Methylenblau wässr. Safraninlösung an, so färbt sich die Exine kirschrot, die Intine orangerot. Die leuchtende Methylenblau-, sowie die orangerote Safraninfärbung werden als charakteristisch für Pektinverbindungen angegeben[4]). Letztere

[1]) Zur Methodik der Pollenuntersuchungen vgl. a. Reg. IV Pollen.

[2]) Insofern weicht die Substanz der Exine von den Kutinen mikrochemisch ab, als sie sich in Chromsäure relativ leicht löst (vgl. nächste Seite), auch von Eau de Javelle leicht angegriffen wird, kochender Kalilauge gegenüber jedoch widersteht und von Sudan-Glyzerin kaum gefärbt wird. Vgl. A. Meyer, Erstes mikroskopisches Praktikum, 3. Aufl., 1915, S. 16 u. 207.

[3]) E. Strasburger, Histol. Beitr., H. 2, 1889, S. 135.

[4]) Nach L. Mangin, Journ. de Bot. 1892, S. 240, s. a. dies. Prakt. S. 174.

würden somit die Hauptmasse der Intine bilden[1]). Die Intine ist in diesem Fall so reich an derartigen Stoffen, daß sie sich auch mit Chlorzinkjodlösung nur hellgelb färbt, allenfalls nur ihre innerste homogene Schicht undeutliche Zellulosefärbung verrät. Die Intine der Pollenkörner soll stets pektinhaltig sein, doch pflegt auch die Zellulosereaktion sonst leicht an ihr zu gelingen. Die Exine wird — und darin gleicht sie kutinisierten Membranen — von der Chlorzinkjodlösung gelbbraun gefärbt. — Alkoholmaterial des Pollens von Hemerocallis fulva reagiert fast noch besser als frisches. Das Öl fehlt in solchen Präparaten, da es durch den Alkohol entfernt wurde. In den äußeren Teilen der Exine treten dann bei Wasserzusatz senkrecht gegen die Oberfläche gerichtete Streifen besonders deutlich hervor. Unter dem Einfluß von Schwefelsäure wird die Struktur der äußeren Teile der Exine noch schärfer. Bei starker Vergrößerung haben wir dann ein zierliches, mäandrisches Netzwerk vor Augen. Die gelben Ölmassen werden durch Schwefelsäure blau gefärbt und liegen als unregelmäßige Körper in den Maschen der Exine. Diese selbst ist gelb geworden; nach einigen Stunden wird sie rotbraun, während der hervorgetretene Inhalt des Pollenkorns sich gleichzeitig rosenrot färbt, ein Verhalten, das plasmatische Substanzen bei Gegenwart von Zucker unter Einwirkung von Schwefelsäure zeigen. — In 25-proz. Chromsäure werden die inneren Teile der Exine und der Inhalt der Pollenkörner rasch gelöst, die äußeren Teile widerstehen länger[2]).

Wir führen nunmehr Querschnitte durch eine Blütenknospe, die etwa zwei Drittel ihrer endgültigen Größe erreicht hat, aus. Mit Nadeln entfernen wir hierauf aus dem Präparat die Perigonblattquerschnitte. Obgleich wir eine so junge Blütenknospe zur Untersuchung wählten, finden wir doch alle Pollensäcke geöffnet. Ihr Öffnen erfolgt eben sehr leicht und wird beim Schneiden durch den Druck des Messers verursacht. Das in Fig. 228 *A* dargestellte Bild soll zu unserer Orientierung dienen. Die Außenwände der Pollensäcke lösen sich von der die beiden Säcke in jeder Antherenhälfte trennenden Scheidewand (bei *p*) ab und verringern hierbei ihre Krümmung. Die beiden Antherenhälften werden durch das schmale, von einem Leitbündel (*f*) durchzogene Konnektiv verbunden. Betrachten wir den Querschnitt bei stärkerer Vergrößerung, so sehen wir zu äußerst an ihm eine mit violettem Zellsaft erfüllte, flachzellige Epidermis. Die Epidermiszellen sind nach außen vorgewölbt. An der Trennungswand der Pollensäcke sinken sie rasch zu geringer Höhe hinab. Hier erfolgt die Ablösung von der Scheidewand. Auf der ganzen Oberfläche der Anthere sind Spaltöffnungen zerstreut. Eine kleine Atemhöhle liegt unter jeder von ihnen. Auf die Epidermis folgt in den Außenwänden der Pollensäcke eine Schicht relativ hoher, mit ringförmiger Verdickung versehener Zellen, die sog. fibröse Schicht (Faserschicht). Die Ringe in diesen Zellen sind senkrecht zur Oberfläche gerichtet, sie gehen stellenweise in Schraubenwindungen über, anastomosieren außerdem vielfach netzförmig miteinander. Nach der Rückenfläche der Anthere zu verdoppelt sich die Schicht fibröser

[1]) Nach L. Mangin, l. c. 1889, S. 279.

[2]) S. Näh. bei H. Leitgeb, Über Bau und Entwicklung der Sporenhäute, 1884, und H. Fischer, Dissert., Breslau, 1890, S. 9.

Zellen. Der übrige Körper der Anthere wird dort ebenfalls von den fibrösen Zellen aufgebaut. Nur die Zellen, die das Leitbündel des Konnektivs umgeben, und jene (*p*), welche die Scheidewand zwischen den Pollensäcken bilden, sind ohne Verdickungsleisten. — Um Flächenschnitte durch die Antheren auszuführen, wählen wir wiederum bis auf zwei Drittel ausgewachsene Blütenknospen. Die Flächenschnitte zeigen uns, daß die Epidermiszellen an der Außenfläche der Pollensäcke in der Längsrichtung, die Zellen der fibrösen Schicht aber quer gestreckt sind. Nicht so im Konnektiv, wo die fibrösen Zellen sich mehr isodiametrisch zeigen. Die Verdickungsleisten an der Außenseite der fibrösen Zellen der Pollensäcke sind schwächer, ja oft kaum angedeutet. Häufig unterbleibt die Verdickung der Außenfläche der fibrösen Zellen an den Pollensäcken gänzlich, so daß ihre Verdickungsleisten **U**-förmige oder schemelförmige, nach außen offene Figuren darstellen. Diese Verdickungsart bedingt es, daß an den Pollensackwandungen reifer Antheren durch Wasserverlust ähnliche Vorgänge, wie in den Ringzellen der Farnsporangien (S. 555) ausgelöst werden und das Aufspringen der Pollensäcke veranlassen[1]). Im Gegensatz zu dem hier geschilderten Verhalten fanden wir an den Pollensäcken der Kiefer die E p i d e r m i s mit dem charakteristischen Verdickungsleisten einer fibrösen Schicht ausgestattet. So verhalten sich auch die Sporangienwände der Lycopodiaceen. Dann ist es dementsprechend die Epidermis, der die mechanische Aufgabe der Öffnung des Behälters zufällt. — Um die Pollensäcke an unseren Querschnitten von Hemerocallis in geschlossenem Zustand zu sehen, greifen wir so lange auf immer jüngere Blütenknospen zurück, als dies nötig erscheint (Fig. 228 *B*). An Querschnitten durch etwa 6—7 mm hohe Blütenknospen zeigen uns die Wände der Pollensäcke außer der Epi-

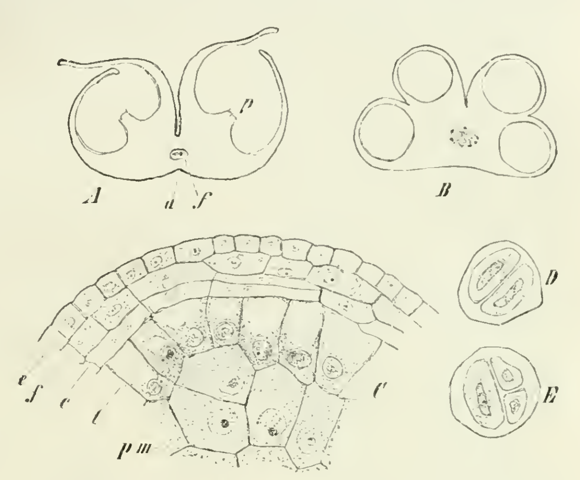


Fig. 228. Hemerocallis fulva. *A* Querschnitt durch eine fast reife Anthere mit durch den Schnitt geöffneten Pollensäcken. *p* die Scheidewand zwischen den Pollensäcken; *f* Leitbündel des Konnektivs; *a* Furche am Konnektiv. Vergr. 14. *B* Querschnitt durch eine junge Anthere. Vergr. 28. *C* Teil des vorhergehenden Querschnittes an der Außenseite eines Pollensackes. *e* Epidermis; *f* die spätere Faserschicht; *c* die zu verdrängende Schicht; *t* die sich später auflösende Tapetenschicht; *pm* Pollenmutterzellen. Vergr. 240. *D* und *E* geteilte Pollenmutterzellen. Vergr. 240.

[1]) Vgl. u. a. C. Steinbrinck, Biol. Zentralbl., Bd. XXIV, 1906; Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXVII, 1909, S. 300; ferner Derselbe, Ebenda, Bd. XXXI, 1913, S. 448, Bd. XXXII, 1914, S. 367, Bd. XXXIII, 1915, S. 66; E. Hannig, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVII, 1909, S. 186; J. M. Schneider, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXIX, 1911, S. 406. Vgl. dazu M. Schips, Beih. z. bot. Zentralbl., 1. Abt., Bd. XXXI, 1914, S. 119 ff. Dort auch, S. 204 ff., eine ausführl. Literaturzusammenstellung.

dermis (*C*, *e*) 2—3 Schichten flacher (*f*, *c*) und eine Schicht radial gestreckter Zellen (*t*). Letztere umgeben den ganzen Pollensack. Dieser selbst wird von den polygonalen, noch zusammenhängenden Pollenmutterzellen erfüllt. — Schneiden wir durch etwa 1 cm hohe Blütenknospen, so finden wir die Pollenmutterzellen evtl. schon isoliert und in Teilung begriffen. Diese Pollenmutterzellen sind an ihrer weißen, dicken, stark lichtbrechenden Wand kenntlich; ihr Inhalt ist in 2 (*D*) oder bereits in 4 Zellen geteilt, die in einer oder in zwei (*E*) sich kreuzenden Ebenen liegen. Es werden somit die Pollenkörner wie die Sporen der Bryophyten und Pteridophyten durch Vierteilung innerhalb ihrer Mutterzelle erzeugt. Der Pollensack wird von „Tapetenzellen" umkleidet, die mit gelbbraunem Inhalt erfüllt sind. Diese gingen aus der innersten, den Sack auskleidenden Zellschicht (*t*) hervor. In nächst älteren Blütenknospen haben sich die Pollenmutterzellhäute aufgelöst, die jungen Pollenkörner liegen frei; die Tapetenzellen haben ihre Selbständigkeit größtenteils aufgegeben, ihr Inhalt ist zwischen die jungen Pollenkörner gedrungen[1]). Die unter der Epidermis gelegene Schicht flacher Zellen (*f*) ist stark gewachsen und bildet die Faserschicht, während die nächst innere Schicht zerquetscht und desorganisiert wurde. Schließlich nimmt, wie noch ältere Knospen zeigen, der noch unverbrauchte Teil der Tapetenzellen, besonders an der Wandung der Säcke eine intensiv gelbbraune Färbung und fettglänzendes Aussehen an und bildet so die meist gelb oder rot gefärbte ölige Substanz[2]), die zwischen den Pollenkörnern verteilt ist und an ihnen haftet.

Läßt man auf sehr junge Antherenschnitte Methylenblau einwirken, so färben sich die Wände in den Zellen in der ganzen Ausdehnung des Schnittes himmelblau. Sie enthalten danach, wie MANGIN[3]) angibt, Pektinstoffe. Die Reaktion tritt aber nur gut ein, wenn die Schnitte zuvor mit verd. JAVALLEscher Lauge mazeriert und die stickstoffhaltigen Substanzen, die auch in den Zellwänden der Pollenmutterzellen vertreten sind, entfernt wurden. Auf etwas älteren Stadien, wenn die Pollenmutterzellen sich zu teilen beginnen, weisen ebenso behandelte Schnitte großen Reichtum an Pektinstoffen in den Pollenmutterzellwänden auf. Eine Behandlung mit Chlorzinkjodlösung lehrt, daß Zellulose in diesen Wänden gänzlich fehlt. Zur Zeit, wo die Teilungen in den Pollenmutterzellen zu Ende gehen, werden ihre Wände ungleichmäßig verdickt. Dann werden die jungen Pollenkörner ausgebildet, und die Mutterzellwände beginnen zu einer farblosen Gallerte zu verquellen. Man stellt mit Methylenblau jetzt fest, daß die stark lichtbrechenden Verdickungen der Pollenmutterzellwände durch diesen Farbstoff nicht gefärbt werden. Sie nehmen dagegen intensiv blaue Farbe bei Behandlung mit Anilinblau an und sollen danach aus Kallose bestehen. Die Wände der jungen Pollenkörner werden andererseits, wie ihr Verhalten gegen Methylenblau zeigt, von Pektinstoffen gebildet. Sie kutinisieren in ihren äußeren Teilen nachträglich, was sich ebenfalls mit Hilfe von Reagentien verfolgen läßt (vgl. dazu S. 587).

[1]) Vgl. dazu E. HANNIG, Flora, Bd. CII, 1911, S. 209 ff. u. 335 ff.; ferner G. TISCHLER, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LV, 1915, S. 53, u. H. O. JUEL, Ebenda, Bd. LVI, 1916, S. 337.

[2]) Nach M. KÜSTENMACHER, Ber. d. Deutsch. pharm. Ges., Bd. XXI, 1911, S. 65, stellt diese Substanz kein Fett dar, wie man früher annahm, sondern einen gerbstoffhaltigen Harzbalsam, der noch Zimtsäure und Zimtalkohol führt.

[3]) L. MANGIN, l. c. 1889, S. 388.

Zuletzt tritt auch Zellulose an der Innenseite der Pollenwandung auf, nachdem die Pollenkörner aus ihren Mutterzellwänden befreit wurden und annähernd ihre definitive Größe erreichten.

Wie Hemerocallis verhalten sich die Lilium-Arten. Die Differenzierungsvorgänge in den Antheren spielen sich hier aber später ab. Erst in 2 cm hohen Blütenknospen von Lilium candidum, L. croceum und anderen, beginnen sich die Pollenmutterzellen zu teilen. Auf Querschnitten durch frische Blütenknospen fallen die großen Tapetenzellen durch die gelbbraune Färbung ihres Inhalts sehr auf. Die hypodermalen, sowie alle anderen, später mit Verdickungsleisten versehenen Zellen sind dicht mit Stärkekörnern angefüllt.

Funkia ovata gibt ebenfalls ein sehr günstiges Untersuchungsobjekt ab und verhält sich wie Hemerocallis und Lilium, so auch Agapanthus umbellatus, Iris-Arten u. a. m. Tulipa und Hyacinthus orientalis sind ebenfalls gut zu brauchen. Bei Tulipa spitzt sich das Filament unter der Anthere so stark zu, daß diese drehbar wird; bei Hyacinthus sind die Antheren fast sitzend auf dem Perigon.

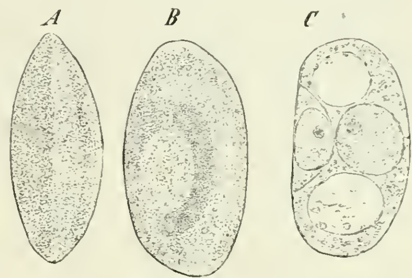


Fig. 229. Tradescantia virginica. *A* Pollenkorn trocken, *B* in Wasser, *C* junges Pollenkorn in Wasser, seitlich in der vegetativen die generative Zelle zeigend. Vergr. 540.

Weniger gut läßt sich Tradescantia virginica schneiden; wir untersuchen daher nur ihre Pollenkörner. Staubblätter aus einer dem Aufblühen nahen Knospe zeigen uns schön schwefelgelbe Antheren an violetten, mit violetten Haaren (vgl. S. 140) besetzten Filamenten befestigt. Die trockenen Pollenkörner sind einseitig zusammengefaltet (Fig. 229 *A*). Im Wasser gleicht sich die Falte aus und die Körner werden fast ellipsoidisch, doch an der der Falte entsprechenden Seite stärker vorgewölbt. Ihre Exine ist fein mäandrisch verziert; auch die eingefaltete Seite zeigt diese Struktur, doch ist dort die Exine schwächer ausgebildet. In dem feinkörnigen Inhalt sind neben meist 2 hellen Vakuolen noch 2 Gebilde zu unterscheiden (*C*). Es sind das die beiden Zellkerne, von denen der vegetative mehr oder minder kugelförmig, der die generative Zelle fast völlig ausfüllende generative ellipsoidisch ist. Die Pollenkörner fangen nach einiger Zeit zu platzen an, wobei die Kerne zugleich mit dem Inhalt herausgepreßt werden. Sehr schön kann man beide Kerne sehen, wenn man die Pollenkörner in einem Tropfen Methylgrün-Essigsäure zerdrückt. Der generative Kern färbt sich dabei stärker und streckt sich bei seinem Austritt oft noch bedeutender in die Länge. Bringt man die Pollenkörner in das genannte Reagens, ohne sie zu zerdrücken, so zeigen sich die Kerne in ihrer natürlichen Lage innerhalb des Korns, und zwar der generative sehr stark, der vegetative etwas schwächer gefärbt. Die übrigen Teile des Pollenkorns bleiben gleichzeitig ungefärbt. — Werden die Pollenkörner in Wasser mit einem Tropfen

Jodjodkaliumlösung versetzt, so sieht man, nach Zerdrücken der Körner, im hervorgetretenen, gelbbraun gefärbten Inhalt zahlreiche kleine, blau gefärbte Stärkekörnchen. — Gehen wir auf die jüngeren Blüten zurück, nehmen aus 6 mm großen Blütenknospen eine Anthere heraus und zerdrücken sie in Wasser, so werden wir z. T. auf Pollenkörner mit e i n e m Zellkern stoßen (Fig. 229 *B*), z. T. auf solche wie bei *C*, wo 2 Kerne dicht aneinander liegen. Diese beiden Kerne sind aber durch eine uhrglasförmig gekrümmte, äußerst zarte Scheidewand voneinander getrennt. So wird eine kleine, flache, im Grundriß fast kreisförmig umschriebene Zelle, die den einen Kern samt ein wenig Zytoplasma umschließt, von der großen Pollenzelle abgegrenzt. Sie liegt stets an der flacheren, der späteren Falte entgegengesetzten Seite des Pollenkorns. In etwas älteren Blütenknospen kann man sehen, daß sich diese Zelle von der Wand des Pollenkorns getrennt hat und frei im Inhalt des Korns liegt. Sie hat sich in die Länge gestreckt, entsprechend verschmälert und zugleich an den beiden Enden zugespitzt. Diese Zelle ist es, die später die Befruchtung vollzieht, und zwar nachdem sie zuvor im Pollenschlauch eine Zweiteilung erfahren hat. Der Färbungsunterschied zwischen dem generativen und dem vegetativen Kern pflegt in anderen Fällen noch auffälliger als bei Tradescantia zu sein. — L e u c o j u m - (Märzbecher-) Arten und viele andere Liliifloren verhalten sich im wesentlichen so wie Tradescantia.

Die Kerne der Pollenkörner können auch gut mit Chloralkarmin-Lösung sichtbar gemacht werden. Man stellt diese Lösung her, indem man 0,5 g Karmin mit 30 ccm Alkohol unter Hinzufügung von 40 Tropfen offiz. Salzsäure etwa 30 Min. lang auf einem Wasserbad kocht, nach dem Abkühlen 25 g Chloralhydrat zusetzt und dann mehrmals filtriert. Diese Lösung hellt die Pollenkörner auf und färbt sowohl den generativen, wie den vegetativen Kern deutlich rot[1]).

Die Orchideen (Knabenkräuter) besitzen z. T. freie Pollenkörner, so die Gattung Cypripedilum, z. T. zu Tetraden verbundene, so z. B. die Epipactis-Arten, oder endlich in größeren Massen, zu sog. Massulae, vereinigte, so z. B. die Ophrydeen. Wir untersuchen die Sumpfwurz, E p i p a c t i s p a l u s t r i s, und sehen, der eben gemachten Angabe gemäß, je 4 Pollenkörner vereinigt und meist nach den 4 Ecken eines Tetraëders, doch nicht selten auch anders gruppiert. Jedes Korn in der Tetrade hat eine mit netzförmigen Leisten besetzte, gelbliche Exine aufzuweisen. Diese widersteht der Schwefelsäure, von der sie zunächst rot gefärbt, dann aber wieder entfärbt wird. Außerdem kommt jedem Korn eine Intine zu, die, wie entsprechende Färbungen zeigen (s. S. 174), vornehmlich von Pektinstoffen gebildet wird. An der Außenseite ist jedes Korn der Tetrade eingefaltet, und an dieser Stelle ist die Exine ganz schwach, die Intine besonders stark entwickelt. Querschnitte durch hinreichend junge Blütenknospen von E p i p a c t i s p a l u s t r i s zeigen uns in der einen, median gestellten Anthere 4 schmale Pollenfächer; je 2 Fächer sind durch eine dicke Scheidewand getrennt. Von der Außenkante dieser letzteren lösen sich die Wände der Fächer ab. Unter der Epidermis der Fächerwände liegt auch hier eine Faserschicht aus quer gestreckten Zellen, die im all-

[1]) A. MEYER, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. X, 1892, S. 363.

gemeinen schraubenförmige Verdickung und nur an der zukünftigen Trennungsstelle von der Scheidewand ringförmige Verdickung zeigen.

Um die Vereinigung in Massulae zu sehen, können wir uns an eine beliebige Orchis- oder Ophrys-Art wenden, oder bei späterer Jahreszeit an die fliegenartige Höswurz, Gymnadenia conopea. An letztere wollen wir uns im folgenden halten; die Schilderung paßt der Hauptsache nach auch auf die anderen Ophrydeen[1]). Um uns zu orientieren, wenden wir uns zunächst an eine frisch geöffnete Blüte und suchen mit einem spitzen Gegenstand, etwa einem zugespitzten Bleistift, in den Eingang zum Sporn zu gelangen. Zu diesem sehr auffälligen, langen Sporn ist die Unterlippe, das Labellum, entwickelt, das in der fertigen Blüte nach unten gekehrte, eigentlich aber mediane obere Blumenblatt, das nur durch Drehung der Blüte um 180^0, durch „Resupination", zum unteren wurde. Ziehen wir nun den spitzen Gegenstand, den wir in den Eingang des Sporns einführten, wieder zurück, so bringen wir an ihm zugleich die beiden an Stielen befestigten „Pollinien" hervor, vorausgesetzt, daß sie zuvor nicht schon durch Insekten entfernt worden sind. Sie haften dem Gegenstand fest an, allerdings nicht so fest, wie bei vielen anderen Orchideen, und lassen sich daher meist auch unschwer abstreifen. Durch die Insekten, die den hier im Sporn abgesonderten Honig aufsaugen, werden die am Rüssel anhaftenden Pollinien in ähnlicher Weise, unabsichtlich, doch mit Notwendigkeit, aus der Blüte gezogen und in andere Blüten eingeführt, wo Pollenmassen an der unmittelbar über dem Eingang zum Sporn befindlichen Narbe haften bleiben. Betrachten wir uns nun ein solches Pollinium unter dem Präpariermikroskop, so stellen wir fest, daß es keulenförmig ist, und die Keule aus wachsgelben, länglichen Körnern besteht. Versuchen wir, letztere mit den Nadeln auseinander zu bringen, so sehen wir, daß sie durch elastische Fäden zusammengehalten werden. Nach unten verschmälert sich die Keule in ein gelbes, durchscheinendes Stielchen, und dieses endet in einem schmalen, farblosen Gebilde, der an den Gegenständen anhaftenden Klebscheibe. — Bei stärkerer Vergrößerung unter Wasser untersucht, zeigen sich die uns vorhin als längliche Körner erschienenen Massen (Massulae), aus einer großen Anzahl fest verbundener, polygonaler Pollenkörner gebildet. Die einzelnen Massulae haben ei- bis birnenförmige Gestalt und erscheinen durch farblose Fäden untereinander verbunden. Die Massulae gehen nach unten mit nicht ganz scharfer Grenze in das aus einer durchscheinenden, gelblichen Substanz gebildete Stielchen über, bei welchem der Ursprung aus Zellen an den in der Peripherie sich zeichnenden Konturen noch annähernd zu erkennen ist. Die farblose Klebscheibe zeigt auch nur noch Andeutungen einer zelligen Struktur und führt stark lichtbrechende, zähflüssige Schleimtropfen. — Bei Einwirkung von konz. Schwefelsäure tritt an der Oberfläche jeder Massulae die braun sich färbende, netzförmig gezeichnete Exine sehr scharf hervor. Die Fäden zwischen den Massulae schwinden. Das Stielchen wird entfärbt, dessen ursprünglich zellige Struktur tritt deutlich hervor und so auch die nämliche Struktur am Scheibchen, dessen Substanz sich bald rotbraun färbt. Nach längerer Einwirkung der Schwefelsäure wird auch die Oberfläche des Stielchens rotbraun, der Inhalt der Massulae ziegelrot. Die Fäden zwischen den Massulae, das Stielchen und das Klebscheibchen be-

[1]) Vgl. a. M. HIRMER, Flora, Bd. CXIII, 1920, S. 254 ff. bzw. 289 ff.

stehen aus viscinartigen Substanzen. In 25-proz. Chromsäure schwinden die Fäden zwischen den Massulae rasch, so auch bald die Wandungen der Massulae: das Klebscheibchen wird allmählich in stark lichtbrechende Tröpfchen verwandelt; das Stielchen widersteht länger, doch löst sich schließlich das ganze Pollinium auf.

Um uns über den Bau der Anthere von Gymnadenia conopea zu orientieren, müssen wir auf sehr junge, etwa 4 mm hohe Blüten zurückgreifen. Es ist nur eine Anthere vorhanden, die in der resupinierten Blüte median nach oben steht. Wir schneiden durch die ganze Blütenknospe und ordnen die aufeinanderfolgenden Querschnitte auf dem Objektträger ihrer Reihenfolge gemäß an. Wir sehen, daß die Anthere vierfächerig ist, daß die beiden Antherenhälften wie gewöhnlich durch das Konnektiv, die beiden Fächer in jeder Hälfte durch eine dicke Scheidewand getrennt werden. Die Massulae zeichnen sich deutlich in den Fächern ab. Die Fächerwände sind wie gewöhnlich dreischichtig, die Tapetenzellen haben aber nur geringe Höhe. Abwärts in den Fächern nimmt die Höhe der Tapetenzellen zu, und sie erscheinen mit dunkelbraunem, körnigem Inhalt dicht angefüllt. Weiterhin erhalten alle Zellen des Faches, so wie jene der die Fächer trennenden Scheidewand, dasselbe Aussehen, den nämlichen, undurchsichtigen Inhalt; letzterer stellt die Substanz vor, die das Stielchen liefern soll, das somit aus den Tapetenzellen, dem pollenbildenden Gewebe und dem Gewebe der Scheidewand hervorgeht[1]). Der Querschnitt zeigt jetzt in jeder Antherenhälfte nur einen einzigen, rund umschriebenen, mit undurchsichtigen Zellen erfüllten Raum. Gleichzeitig tritt vorn zwischen den beiden Antherenhälften ein Gebilde auf, das, wie eingehende Untersuchungen lehrten[2]), einen metamorphosierten Narbenlappen darstellt, der /\-förmig gekrümmt ist und der an den beiden unteren, umgebogenen Stellen durch Metamorphose seiner Zellen die Klebscheibchen erzeugt. Von dem Aussehen und dem Verhalten dieses medianen Narbenlappens verschafft man sich wohl am leichtesten ein Bild, wenn man eine ganze, etwa 6 mm hohe Knospe unter dem Präpariermikroskop von der Blütenhülle befreit und von vorn betrachtet. Man kann da auch bereits deutlich den späteren Dehiszenzlinien der beiden Antherenhälften folgen, die von der Mittellinie jeder Antherenhälfte aus sich langsam dem medianen Narbenlappen zuwenden. Querschnitte durch 7 mm hohe Blütenknospen zeigen uns die Wandung der Fächer bereits auf die Epidermis und eine hypodermale Schicht reduziert; der letzteren fehlen noch die Verdickungsleisten. Anwendung von Schwefelsäure zeigt, daß um die einzelnen Massulae bereits die Kutinisierung der Außenwandung begonnen hat. — In Querschnitten von Antheren aus 9 mm hohen Blütenknospen sind die beiden, die Pollenfächer trennenden Scheidewände in der Auflösung begriffen; mit den Tapetenzellen zugleich geben sie den Klebstoff her, der die Massulae zusammenhält. Die Exine um die einzelnen Massulae ist deutlich netzförmig gezeichnet. Auf nächstälteren Stadien ist die Scheidewand zwischen den Fächern aufgelöst, die vereinigten Fächer werden durch das Messer in der der Ansatzstelle der Scheidewand entsprechenden Mittellinie geöffnet. In der hypodermalen Faserschicht sind jetzt auch Verdickungsringe aufgetreten, und zwar eigentümlicherweise nur je einer in dem oberen Ende

[1]) Vgl. dazu M. Hirmer, l. c. 1920, S. 265. 289.

[2]) Vgl. Th. Wolf, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. IV, 1865—1866, S. 261; A. Engler, Ebenda, Bd. X, 1875—76, S. 291.

jeder Zelle. Aus jedem Paar von Pollenfächern geht somit nur ein Pollinium hervor, das als zusammenhängende Masse aus der reifen Blüte entfernt wird. — Von Interesse ist es auch noch, einige Querschnitte durch Alkohol-Material auszuführen. Bei 4 mm hohen Blütenknospen sieht man da deutlich in jedem Fach die transversal liegenden, die ganze Breite des Faches einnehmenden Gruppen von Pollenmutterzellen. Jede dieser Gruppen ist deutlich abgegrenzt und verdankt einer gemeinsamen Urmutterzelle den Ursprung; sie bildet je eine Massula. Ist die Größe der Blütenknospen richtig eingehalten worden, so erscheinen die Pollenmutterzellen entweder schon in Tetraden geteilt oder in Teilung begriffen. — Querschnitte durch 7 mm hohe Blütenknospen zeigen uns die Massulae durch Auflösung der Mittellamellen der Urmutterzellwände voneinander getrennt; in jedem Pollenkorn der Massulae sind 2 Zellkerne zu sehen. Bei hinreichend starker Vergrößerung ist festzustellen, daß ein Stück eines jeden Pollenkorns durch eine uhrglasförmige Scheidewand abgegrenzt ist, und daß diese Scheidewand die beiden Kerne trennt. Die Bildung der generativen Zelle ist, wie man leicht feststellen kann, eben erfolgt; doch muß bei der verschiedenen Lage der Tetraden und der Zellen in jeder Tetrade nicht erwartet werden, daß die generativen Zellen in allen Pollenkörnern zugleich zu sehen wären; vielmehr sieht das Bild etwa wie das in Fig. 230 dargestellte aus. In 9 mm hohen Blütenknospen hat sich die generative Zelle von der Wand des Pollenkorns bereits losgelöst und liegt frei neben dem vegetativen Kern im Zytoplasma.

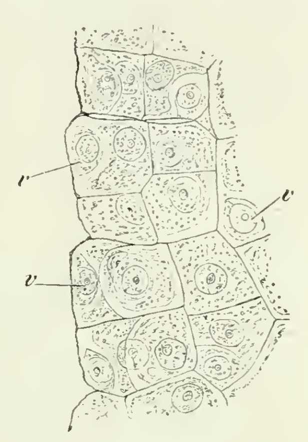


Fig. 230. Gymnadenia conopea. Teil einer Massula (nach Alkohol-Material), *v* generative Zellen. Vergr. 540.

Öffnet man eine zum Aufblühen reife Knospe der zweijährigen Nachtkerze, O e n o t h e r a b i e n n i s, so findet man, daß die Antheren bereits aufgesprungen sind und ihren Pollen entlassen haben. Letzterer wird durch viscinartige Fäden zwischen den Antheren festgehalten. Streicht man solche Fäden auf einen Objektträger und beobachtet sie unter dem Mikroskop, so erscheinen sie als äußerst zarte, z. T. wellig verschlungene Stränge. Die Pollenkörner sind im trockenen Zustand undurchsichtig, doch fällt ihre dreieckige Gestalt sofort auf. Im Wasser zeigen sie sich bei stärkerer Vergrößerung als abgeflachte, gleichseitig dreieckige Gebilde mit warzenförmig vorspringenden Ecken. Am Grund jeder dieser Warzen ist eine innere, ringförmige Verdickung der Pollenhaut zu sehen. Der Inhalt der Pollenkörner erscheint feinkörnig; die beiden Kerne sind in dem Inhalt des reifen Korns nur äußerst schwer nachzuweisen. In Schwefelsäure nimmt die Exine des Pollenkorns eine rotbraune Färbung an. Dabei hebt sich an ihr eine äußere, dünne, gelb gefärbte Schicht, Falten bildend, von einer inneren, dickeren, rotbraunen ab. Beide Schichten vereinigen sich in den farblos bleibenden Wänden der Warzen. Von den Seitenwänden dieser Warzen springen feine Zähne nach innen vor. Die Scheitelfläche der Warzen wird durch die Schwefelsäure aufgelöst. Die feinen, die Pollenkörner verbindenden Fäden widerstehen dem Wasser,

der Schwefelsäure und der Kalilauge und sind auch in Alkohol unlöslich. Werden die Körner mit 25-proz. Chromsäure behandelt, so löst sich alsbald ihre Haut, und zwar die äußeren Teile etwas früher als die inneren. Weiterhin werden auch diese gelöst und schließlich auch die Viscinfäden zwischen den Körnern. Von der Narbe einer älteren Blüte lassen sich Pollenkörner abheben, die bereits Schläuche getrieben haben. Auch hier ist es eine innere farblose, den Inhalt des Pollenkorns umgebende Intine, die durch eine Warze zum Pollenschlauch auswächst. Die Schlauchbildung erfolgt gewöhnlich nur aus einer Warze, oder es wächst doch nur einer der angelegten Schläuche weiter. — Statt Oenothera kann auch ein Weidenröschen (Epilobium) oder eine Fuchsia zur Untersuchung dienen. Letztere kommt z. B. für den Winter in Betracht, da einzelne ihrer Arten sich dann in Gewächshäusern zur Blüte bringen lassen.

Wir wollen uns noch einige andere, besonders charakteristisch gestaltete Pollenkörner ansehen. Durch auffallend große Pollenkörner sind die Malvaceen ausgezeichnet; wir wählen den Pollen der Stockrose, Althaea rosea, zur Untersuchung aus. Im Wasser erscheinen diese Pollenkörner kugelrund, undurchsichtig, mit farblosen Stacheln besetzt. Sie werden sehr schön durchsichtig in Karbolsäure und in Chloralhydrat, weit weniger durchsichtig in Nelkenöl, noch weniger in Zitronenöl, alles Mittel, die man in solchen Fällen zum Durchsichtigmachen der Objekte verwendet. Am besten wirkt hier die Karbolsäure, so daß wir uns an diese halten wollen. Die Oberflächenansicht des Pollenkorns zeigt uns, daß die farblose Exine in annähernd gleichen Abständen mit großen, spitzen Stacheln besetzt ist. Zwischen diesen großen Stacheln sind andere, stumpfe, kurze, von wechselnder Dicke eingestreut. Regelmäßig verteilte, kreisrunde, rosa erscheinende Oeffnungen durchsetzen die Exine. Ihre Grundfläche ist fein punktiert. Der Inhalt des Pollenkorns erscheint gleichmäßig feinkörnig; die Zellkerne sind sehr schwer nachzuweisen. Der optische Durchschnitt des Korns läßt die Gestalt der großen und kleinen Stacheln und der die Exine durchsetzenden Kanäle leicht erkennen. Eine äußerst zarte Intine ist um den Inhalt zu verfolgen; sie wölbt sich ein wenig papillenartig in die Austrittsstellen der Exine vor. In konz. Schwefelsäure wird die Exine alsbald rotbraun gefärbt und zeigt dann ihren Bau sehr deutlich. — Wie die Pollenkörner von Althaea verhalten sich auch jene der meisten anderen Malvaceen. Bei der häufig kultivierten Malva crispa z. B., oder bei Malva silvestris, von der übrigens in Apotheken jederzeit trockenes Blütenmaterial zu haben ist, sind die Pollenkörner ganz ebenso wie bei Althaea gestaltet, nur daß die Stacheln der Pollenhaut sich alle gleichen. Zwischen den Stacheln liegen die Austrittsstellen verteilt; die Haut erscheint außerdem fein punktiert.

Diese großen Pollenkörner benutzen wir auch, um Schnitte durch sie auszuführen[1]). Um solche schnell zu erreichen, verwenden wir in Alkohol gehärtetes Material, das wir in ein Gemisch von gleichen Teilen Alkohol und Glyzerin legen. Wir stellen uns eine dicke Lösung von Gummi her, der wir eine sehr geringe Menge Glyzerin hinzufügen, bringen von dieser Lösung einen

[1]) Vgl. H. Schacht, l. c. 1860, S. 110.

Tropfen auf die ebengeschnittene Endfläche einer Holundermarkstange und setzen dem Gummitropfen jene Pollenkörner hinzu. Diese werden in das Gummi eingerührt, und hierauf der Tropfen bei aufrechter Stellung der Holundermarkstange an der Luft zum Eintrocknen gebracht oder durch mehrstündiges Liegen in Alkohol gehärtet. Dann werden mit einem scharfen Rasiermesser Querschnitte durch das Gummi geführt. Die erhaltenen Schnitte dürfen wohl sehr klein sein, müssen aber äußerst geringe Dicke haben. Die Schnitte werden in Wasser oder verd. Glyzerin gelegt, wo das Gummi sich löst, und die eingeschlossenen Pollenkornschnitte frei werden. An solchen Schnitten läßt sich dann die Struktur der Pollenhaut

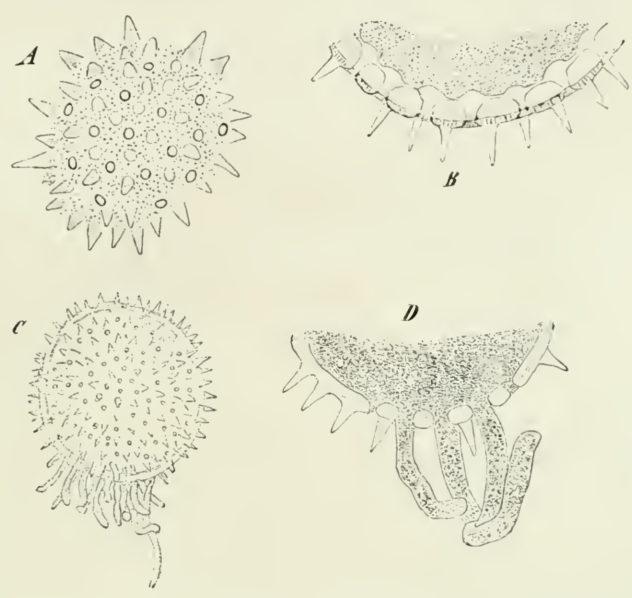


Fig. 231. Malva crispa. *A* Stück eines Pollenkorns von der Oberfläche. *B* Teil eines Querschnittes durch ein Pollenkorn, *C* ein von der Narbe genommenes Pollenkorn mit Schläuchen, *D* Teil eines solchen Pollenkorns im optischen Durchschnitt. *A*, *B* und *D* 540-, *C* 240 mal vergrößert.

in allen Einzelheiten studieren. Ein solcher Querschnitt von Malva crispa (Fig. 231 *B*) zeigt an der Exine zu äußerst eine dünne, mit Stacheln besetzte Außenschicht, darauf eine zarte Stäbchenschicht, die den von der Fläche gesehenen Punkten entspricht, und eine dicke, homogene, nach innen konvex vorspringende Innenschicht. Die Intine ist unter den Austrittsstellen angeschwollen, stellt im übrigen aber ein zartes Häutchen dar. Behandeln wir solche Schnitte mit Chlorzinkjodlösung, so färben sich in ihnen die Außenschicht der Exine und der Stacheln kaum, die Verdickungsschichten der Exine gelbbraun, der Intine deutlich blau. Die Intine ist in diesem Fall relativ zellulosereich. Der Inhalt des Pollenkorns quillt und wird violett, was auf dem Vorhandensein von quellenden und sich färbenden Stärkekörnern beruht. Die farblosen wie die gefärbten Schnitte lehren bei starker Vergrößerung und sehr geringer Dicke, daß die Poren der Exine nach außen durch ein sehr zartes Häutchen, die sich über diese

fortsetzende Außenschicht, geschlossen sind. — Um Schnitte durch Pollenkörner zu erhalten, die allen Anforderungen der modernen mikroskopischen Technik entsprechen, ist das Material in Paraffin einzubetten und mit dem Mikrotom zu schneiden; die Schnitte sind mit den für Pektin und Zellulose als charakteristisch angegebenen Farbstoffen zu färben (vgl. S. 45, 67, 170, 173, 249).

Suchen wir unter dem Präpariermikroskop die Narben älterer Blüten von Malva crispa ab, so finden wir an ihnen zahlreiche Pollenkörner. Diese haben aus der der Narbenfläche zugekehrten Seite zahlreiche Schläuche getrieben. Wird ein solches Korn, dessen Schläuche noch kurz sind, abpräpariert, so kann man leicht feststellen, daß die Schläuche durch die Öffnungen der Exine nach außen treten (Fig. 231 *C*). Noch schöner zeigt sich dies im optischen Durchschnitt, nachdem das Korn in Karbolsäure durchsichtig gemacht worden ist (*D*). — Zu ähnlichen Untersuchungen kann man auch die bestäubten fedrigen Narben der Getreidearten und Gräser verwenden. So lassen sich z. B. zur Blütezeit leicht die Fruchtknoten des frz. Raygrases, Arrhenatherum elatius, aus den Ährchen trennen und, da sie verhältnismäßig geringen Durchmesser haben, bei schwacher Vergrößerung unter Mikroskop im Wassertropfen untersuchen. Da sieht man denn an vielen Stellen die hier glatten, kugeligen Pollenkörner, die aus der für den Gramineen-Pollen charakteristischen kreisrunden, kraterförmigen Öffnung der Exine mehr oder weniger lange, zwischen die Papillen der Narben vordringende Pollenschläuche getrieben haben. Durch Zusatz von Methylgrün-Essigsäure, welche von Pollenkörnern bzw. Schläuchen stärker aufgenommen wird als von den Narbenpapillen, kann das Bild noch mehr verdeutlicht werden.

Verhältnismäßig sehr große Pollenkörner sind bei den Mirabilis-Arten zu finden. An dem Pollen von Mirabilis Jalapa, der Wunderblume, ist unter Wasser wenig von dem Bau zu sehen. Deutlicher wird das Bild nach dem Zerdrücken der Körner, sehr schön, wenn wir die Körner nach dem schon erprobten Verfahren in Karbolsäure bringen. Die Exine zeigt runde, gleichmäßig verteilte, sich nach innen erweiternde Öffnungen, die Austrittsstellen. Jede Öffnung erscheint bei tieferer Einstellung von einem sich besonders markierenden Rahmen umgeben, der, wie der optische Durchschnitt zeigt, von der in die Öffnung der Exine vordringenden, hier ziemlich stark verdickten Intine gebildet wird. Die Exine ist an ihrer Oberfläche mit kurzen Stacheln besetzt. Außerdem erscheint sie von feinen Poren durchbrochen. Im optischen Durchschnitt läßt sie deutlich eine innere und eine äußere Schicht erkennen. Von diesen besitzt nur die äußere die feinen Poren: sie zeigt sich mit der inneren nur durch kurze Stäbchen verbunden. Bei Flächeneinstellung erscheinen diese Stäbchen als runde Flecke, die bei Veränderung der Einstellung in dem Augenblick auftreten, wo die feinen Poren der Exine schwinden. Die zwischen den Austrittsstellen gelegenen Teile der inneren Schicht springen halbkugelig nach innen vor. — In Chloralhydrat wird ein gelb sich färbendes Öl gut sichtbar, und der optische Durchschnitt zeigt, daß es die Zwischenräume zwischen der inneren und äußeren Schicht der Exine erfüllt.

Die großen Pollenkörner der Cucurbita-Arten (Fig. 232) haben sich von jeher der besonderen Berücksichtigung erfreut wegen der Deckel, welche die Austrittsstelle der Exine schließen. In Wasser

treten gelbe Öltröpfchen aus der Oberfläche der Exine hervor, die Körner entleeren alsbald ihren Inhalt, und der Bau der Haut wird dann deutlich. Die Exine ist mit regelmäßig verteilten, großen, und zwischen diesen mit sehr zahlreichen, kleinen Stacheln besetzt. Die Austrittsstellen sind rund, die Deckel durch die papillenartig vorgewölbte Intine einseitig oder vollständig emporgehoben. Diese Deckel haben den Bau der angrenzenden Exine und tragen einen oder einige Stacheln. Sehr schön zeigen sich die Stacheln und Deckel der Exine, wenn man frischen Kürbis-Pollen in Methylgrün-Essigsäure untersucht. Sie erscheinen dabei dunkelgrün gefärbt. Gute Bilder erhält man auch in Zitronenöl, wenig brauchbare in Nelkenöl. Andererseits sind die Bilder in Chloralhydrat jenen in Karbolsäure vorzuziehen. Mit einem Wort: für jedes einzelne Objekt ist das günstigste Aufhellungsmittel durch Versuche zu ermitteln. An den Zitronenöl- und Chloralhydrat-Präparaten stellen wir auf optischen Durchschnitten die Lage der Deckel innerhalb der Exine fest, in der sie sich mit nach innen zu etwas erweitertem Grund eingekeilt finden. Unter dem Deckel ist die Anschwellung der Intine zu sehen. In Schwefelsäure werden die Öltropfen an der Exine blau. Die Exine bräunt sich langsam. Die Deckel werden durch den hervorquellenden Inhalt abgestoßen. In 25-proz. Chromsäure wird alsbald die ganze Pollenhaut gelöst; die Exine widersteht etwas länger und ist im Augenblick, wo die Intine schwindet, als stark gequollene, homogene Haut zu verfolgen. Das Pollenkorn hat sich zuvor entleert, wodurch die Beobachtung der Intine noch wesentlich erleichtert wird. In der Schwefelsäure ist hingegen die Intine sofort gelöst worden, die Exine bleibt erhalten. Der hervorgetretene Inhalt des Pollenkorns färbt sich wie in anderen Fällen allmählich rosenrot.

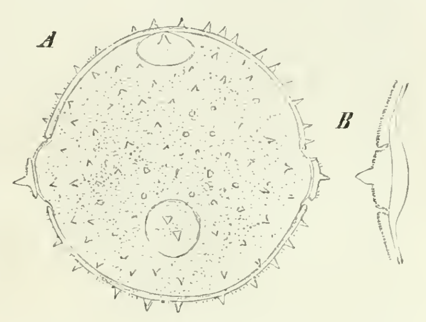


Fig. 232. *A* Cucurbita Pepo. Ganzes Pollenkorn in Flächenansicht und z. T. auch im optischen Durchschnitt nach einem Zitronenöl-Präparat. Vergr. 240. *B* Cucurbita verrucosa. Teil eines Querschnittes durch ein Pollenkorn. Vergr. 540.

Von zusammengesetzten Pollenkörnern, die sowohl bei Monokotylen, wie bei Dikotylen vorkommen, sehen wir uns zunächst jene des Heidekrauts, Calluna vulgaris, an. Die Körner sind zu je 4 vereinigt und meist tetraëdrisch gruppiert. Die Pollenhaut zeigt nur schwache Erhabenheiten und meist 3 Austrittsstellen an jedem Korn. — Wie Calluna verhalten sich im wesentlichen die Erica-, Azalea- und Rhododendron-Arten, die z. T. auch zur Winterszeit im Gewächshaus blühend zur Verfügung stehen. — Bei Acacia-Arten, ja überhaupt bei Mimosaceen, bilden die Pollenkörner Gruppen von 4, 8, 12 und 16, selbst von noch mehr Zellen, können aber auch als einzelne Zellen auftreten.

Zum Schluß wollen wir noch einige künstliche Aussaatversuche von Pollenkörnern machen. Wir stellen uns zu diesem Zweck Lösungen her, die auf 100 T. Brunnenwasser 3—30 T. Rohrzucker und 1,5 T.

Gelatine enthalten. Die Bildung der Pollenschläuche gelingt in solchen Lösungen meist sehr gut[1]). Für jede Spezies ist übrigens die Konzentration der Zuckerlösung erst auszuprobieren. Manche Pollenkörner treiben ihre Schläuche bei sehr verschiedenen Konzentrationen, andere hingegen sind für den Konzentrationsgrad sehr empfindlich. — Die Aussaaten führen wir auf Deckgläsern in flach ausgebreiteten Tropfen (vgl. Reg. IV Hängender Tropfen) aus, die in kleinen, feuchten Kammern suspendiert werden. — Sehr gut lassen sich die Pollenkörner der Zwiebel (Allium)-Arten in 3-proz. Zuckerlösung kultivieren. Die Körner sind im wesentlichen so wie jene von Hemerocallis gebaut, nur kleiner. Die von der Intine gebildeten Schläuche treten aus der am trocknen Korn eingefalteten Fläche hervor. Die 2 wurmförmigen Zellkerne, der nackte vegetative wie der von seiner Zelle umschlossene generative, wandern in den Schlauch ein. Dieser Schlauch kann so bedeutende Länge in den Kulturen erreichen, daß seine nach rückwärts gelegenen Partien sogar durch pfropfartige Substanzballen abgeschlossen werden. Es geschieht dies jedesmal dann, wenn ein Schlauchteil von dem in der Richtung zum Scheitel fortschreitenden Plasma völlig entleert wird. Ob diese Pfropfen ebenso, wie die innerste Lamelle der Schlauchwand[2]), aus Kallose bestehen, ist, wenn sie sich auch oft deutlich mit wässr. Anilinblaulösung färben lassen, fraglich[3]). In dem Protoplasma der Schläuche sind lebhafte Strömungserscheinungen zu beobachten. Die Kerne im Schlauch weist man durch Zusatz von einem Tropfen Methylgrün-Essigsäure leicht nach. — Die Pollenkörner von Tulipa Gesneriana keimen in 1—3-proz. Zuckerlösung. Leucojum aestivum treibt sehr leicht und rasch Schläuche in 3—5-proz. Zuckerlösung. So auch Narcissus poëticus in derselben Lösung. Convallaria majalis in 5—20-proz. Lösung, Iris sibirica in 30—40-proz. Lösung, während für Iris versicolor eine 15—30-proz. Lösung genügt[4]). Auch aus den Massulae der Orchideen lassen sich in 5—10-proz. Zuckerlösung Schläuche heranziehen, doch meist erst nach 20—40 Std. Dabei ist festzustellen, daß der an seinem größeren Kernkörperchen kenntliche, vegetative Kern vorausgeht; die generative Zelle samt Kern mit kleinerem Kernkörperchen folgt nach. — Unter den Dikotylen keimen die Pollenkörner von Torenia asiatica sehr gut; in 10-proz. Zuckerlösung haben sie nach 2 Std. Schläuche getrieben und wachsen so rasch, daß man die Spitze des Schlauches bei starker Vergrößerung durch das Gesichtsfeld fortrücken sieht. Ähnlich verhalten sich in 3—10-proz. Zuckerlösung Gloxinia-Arten, in 1-proz. Papaver, in 5-proz. Paeonia-, in 1—20-proz. Sedum-Arten, Viola tricolor in 30-proz., Ampelopsis hederacea in 20—30-proz.; Malvaceen, Umbelliferen und Kompositen-Pollen haben sogar 30—40-proz. Rohrzucker zur Keimung nötig[5]). Das günstigste Objekt geben wohl Lathyrus-Arten ab, deren Pollenkörner in 15-proz. Zuckerlösung mit 1,5 % Gelatine-

[1]) Vgl. hierzu E. Strasburger, Befr. u. Zellt., 1878, S. 22; Fr. Elfving, Jen. Zeitschr. f. Naturwiss., Bd. XIII, 1879, S. 1; E. Strasburger, Neue Unters. ü. d. Befruchtungsvorgang b. d. Phaner., 1884, S. 13; P. Rittinghaus, Verhandl. d. Nat. Ver. f. Rheinl. u. Westf., Jahrg. XLIII, 1887, S. 123; E. Strasburger, Biol. Zentralbl., Bd. XX, 1900, S. 763. Vgl. auch die zusammenfassenden Angaben zur Physiologie des Pollens von J. Tokugawa, Journ. Coll. Sc. imp. Univ. Tokyo, Bd. XXXV, 1914.

[2]) L. Jost, Bot. Ztg., LXV. Jahrg., I. Abt., 1907, S. 84.

[3]) E. W. Schmidt, Bau u. Funkt. d. Siebröhre der Angiospermen, 1917, S. 72.

[4]) M. L. Sawyer, Bot. Gaz., Bd. LXIV, 1917, S. 159.

[5]) B. Lidforss, Zeitschr. f. Bot., Bd. I, 1909, S. 448.

zusatz keimen. Die Zucker-Gelatine-Lösungen müssen frisch hergestellt werden, da sie sich nicht halten. Statt Gelatine wird auch der Zusatz von 1-proz. reinem Agar zu den verschiedenen Zuckerkonzentrationen empfohlen[1]). Die in diesem Medium auskeimenden Pollenschläuche sollen eine sehr viel stärkere Vitalität besitzen, als die in Gelatine erwachsenen. So keimt der Pollen und entwickeln sich kräftige Pollenschläuche von Vinca minor sehr leicht auf $1^1/_2$% Agar mit 5% Rohrzucker, Aesculus Hippocastanum auf $1^1/_2$% Agar mit 10% Rohrzucker, Lupinus perennis auf 15% Agarzucker, Menyanthes trifoliata auf 10% Agarzucker, Eschscholtzia californica auf 10% Agarzucker[2]), Butomus auf 1-proz. Zuckeragar (1% Agar), Echeveria auf 10-proz. Traubenzucker-Agar (1% Agar)[3]). — Eine ganze Anzahl von Pollenkörnern kann auch in reinem Wasser zur Schlauchbildung schreiten, vorausgesetzt, daß die zur Schlauchbildung notwendigen, relativ großen Sauerstoffmengen zur Verfügung stehen. Unter Deckglas werden somit Pollenkörner unter allen Umständen nur in unmittelbarer Nähe des Deckglasrandes Schläuche bilden. Auch im suspendierten oder auf dem Objektträger befindlichen Wassertropfen setzen tiefer untergetauchte Pollenkörner vielfach mit der Schlauchbildung aus; daher gilt es, die Kulturtropfen für solche Zwecke stets flach auszubreiten[4]). Die Pollenkörner mancher Pflanzengruppen, so die der Gramineen (vgl. S. 598), keimen dabei nur dann, wenn ihnen das Wasser in nur sehr beschränktem Maße zur Verfügung steht. Keimungsversuche mit derartigen Pollenkörnern stellt man zweckmäßig so an, daß man den Pollen auf Pergamentpapier oder unbenetzten Objektträgern aussät, und sie in eine große feuchte Kammer stellt[5]). Nur völlig reifer Pollen darf für derartige Versuche zur Verwendung kommen, und zwar liefert frisch geernteter Pollen die besten Resultate. Aber auch älterer Pollen eignet sich dazu, wenn er nur lufttrocken aufbewahrt worden ist (s. darüber Reg. IV Pollen), wobei er lange Zeit seine Keim- und Befruchtungsfähigkeit behält[6]). Unter solchen Pollenkörnern, die in Aq. dest. nicht platzen, vielmehr ihre Schläuche treiben, wären Lobelien, Nicotianen, Lysimachia Nummularia, Glaucium luteum, Aquilegia Skinneri, Lilien, Agapanthus umbellatus zu nennen[7]). Manche dieser Pollenkörner büßen hingegen ihre Keimfähigkeit ein, wenn das Wasser geringe Quantitäten Mineralsalze enthält, wie denn Mineralsalze im allgemeinen sehr giftig für den Pollen sind. Ausgiebige Keimung läßt sich andererseits in manchen Fällen durch Zusatz sehr geringer Säuremengen, z. B. von Zitronensäure, erzielen; wo andere Mittel versagen, hilft unter Umständen das Einlegen von Narbenstücken in die Kulturflüssig-

[1]) L. Jost, l. c. 1907, S. 101; B. Lidforss, Zeitschr. f. Bot., Bd. I, 1909, S. 445; M. Pfundt, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVII, 1910, S. 6. Letzterer gibt S. 36 für eine große Zahl von Pflanzenarten die für die Keimung ihres frischen Pollens günstigen Zuckerkonzentrationen an. Ähnliche Angaben auch bei B. Lidforss, l. c. 1909, S. 480 ff.

[2]) W. Bobilioff-Preisser, Beih. z. bot. Zentralbl., 1. Abt., Bd. XXXIV, 1917, S. 465 ff.

[3]) Fr. Herrig, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXVII, 1919, S. 450, 452.

[4]) B. Lidforss, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXIX, 1896, S. 5. S. a. Reg. IV Hängender Tropfen.

[5]) Vgl. L. Jost, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXIII, 1905, S. 504, und l. c. 1907, S. 80. S. a. B. Lidforss, l. c. 1909, S. 457, und M. Pfundt, l. c. 1910, S. 35.

[6]) Vgl. J. Simon, Möllers deutsche Gärtnerztg., Bd. XXV, 1910, S. 11, ferner in Mitt. d. Pflanzenphysiol. Versuchsstat., Dresden 1910; auch M. Pfundt, l. c. 1910, S. 31.

[7]) Diese und auch die nächstfolg. Angaben nach B. Lidforss, l. c. 1896, S. 8 ff.

keit[1]) oder das Zusetzen von Saft frisch geschnittener Stengel oder Blätter der betr. Versuchspflanze[2]). — Daß Pollenkörner auch imstande sind, in dem Kulturmedium eingeschlossen, also unter Luftabschluß, zu keimen, und, wenn auch nicht sehr lange, Pollenschläuche zu bilden, zeigten u. a. Versuche mit Pollen von Cornus mas, der in einem Tropfen von warmer Gelatine 6% und Rohrzucker 8% auf dem Objektträger ausgesät und mit Deckglas bedeckt wurde. Es keimte da der größte Teil der Körner, trotzdem die Gelatine vollkommen erstarrt war und das Deckglas fest am Objektträger klebte[3]).

Die Pollenkörner invertieren den Rohrzucker, in dem sie kultiviert werden. Das Invertin ist in den Pollenkörnern schon vor der Keimung vertreten, und die Inversion des Zuckers geschieht auch, wenn man durch Zusatz geringer Chloroform-Mengen die Keimung verhindert[4]). — Ebenso enthalten die Pollenkörner Diastase. Setzt man geringe Mengen eines bei Siedehitze dargestellten 1-proz. Kartoffelstärkekleisters der Kulturflüssigkeit zu, so werden die gequollenen Stärkekörner meist in wenigen Std. vollständig gelöst, gleichgültig, ob die Pollenkörner gekeimt sind oder nicht, oder ihren Inhalt in die Kulturflüssigkeit entleert haben[5]). — Die Pollenmassen der Orchideen führen lösliche organische Substanzen, die hitzebeständig sind und sich von den ungekeimten Pollen trennen lassen. Sie veranlassen das nach der Bestäubung der Orchideen oft auftretende Verschwellen der Narbe und des Gynostemiums, ferner Entwicklungshemmungen und vorzeitiges Welken des Perianths[6]). — Die Pollenkörner der Anemophilen, d. h. der Pflanzen, die durch Vermittlung des Windes bestäubt werden, zeichnen sich fast ausnahmslos durch Stärkereichtum aus[7]).

Die Wachstumsrichtung der Pollenschläuche wird vornehmlich durch Chemotropismus[8]) beeinflußt. Legt man auf einen Gelatinewürfel die abgeschnittene Narbe einer Blüte, etwa von Scilla patula, bedeckt die Gelatine in der Umgebung dieser Narbe mit Pollen der nämlichen Pflanze, und stellt diese Kultur in einen feuchten, dunklen Raum, so kann man schon nach wenigen Std. feststellen, daß die ausgetriebenen Pollenschläuche der Narbe zuwachsen. Dieselbe chemotaktische Wirkung üben auch Teile des Fruchtknotens und die Samenanlage auf die Pollenschläuche aus. — Daß auch durch Lösungen verschiedener Zuckerarten, ferner durch Proteïnstoffe die Wachstumsrichtung der Pollenschläuche wohl aller Angiospermen verschiedenartig beeinflußt wird, bei den Pollenschläuchen also ein „Saccharochemotropismus“ bzw. „Proteochemotropismus“ besteht, haben folgende Versuche gelehrt[9]): Auf einem Objektträger ließ man einen in ziemlich dicker Schicht aufgetragenen Gelatine- bzw. Agar-Kulturtropfen, in dessen Mitte eine Glasperle ruhte, erstarren, brachte auf ihm die Pollenkörner zum Keimen, nahm nach einiger Zeit vorsichtig mit einer Pinzette

[1]) Über Pollenschlauchkultur auf Narbenschleim vgl. Reg. IV Pollenschlauchbildung.

[2]) M. L. Sawyer, l. c. 1917, S. 159.

[3]) G. Tischler, Zeitschr. f. Bot., Bd. IX, 1917, S. 447 ff. Dort auch weitere Angaben.

[4]) Ph. van Tieghem, Bull. de la soc. bot. de France, 1886, S. 217.

[5]) E. Strasburger, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XVII, 1886, S. 94.

[6]) H. Fitting, Zeitschr. f. Bot., Bd. II, 1910, S. 225 ff. und Die Naturwissenschaften, Bd. IX, 1921, S. 7. An beiden Orten die frühere Literatur.

[7]) B. Lidforss, l. c. 1896, S. 31; vgl. auch G. Tischler, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVII, 1910, S. 219 u. Zeitschr. f. Bot., Bd. IX, 1917, S. 417 ff.

[8]) M. Miyoshi, Flora, Bd. LXXVIII, 1894, S. 76.

[9]) B. Lidforss, l. c. 1909, S. 443 ff.

die Perle heraus und füllte in die so entstandene Höhlung die betr. Zuckerlösung. Zum Nachweis des Proteochemotropismus brauchte man nur kleine Teilchen des betr. Proteïnstoffs auf die erstarrende Pollenkultur zu bringen; sie sanken dann in der Gallerte unter und bildeten allmählich um sich eine Diffusionszone von wechselnder Breite.

Bei vielen Pollenschläuchen zeigt sich auch ein negativer Osmotropismus. Läßt man z. B. auf dem Objektträger einen flachen, etwas Zucker enthaltenden Kulturtropfen langsam austrocknen, so entsteht an seinen Rändern eine konz. Lösung, die von den austreibenden Schläuchen geflohen wird. — Auch ein negativer Aërotropismus, ferner ein positiver Hydrotropismus ist bei manchen Pollenschläuchen festgestellt worden[1]).

[1]) Die zugehörige Literatur s. bei B. LIDFORSS, l. c. 1909.

XXIX. Abschnitt.

Das Gynaeceum der Angiospermen. Fruchtknoten. Samenanlagen. Befruchtung.

Weg der Pollenschläuche innerhalb des Griffels. Entwicklungsgeschichte der Samenanlagen. Behandlung der sich in Alkohol bräunenden Pflanzen. Anlage des Endosperms. Blütenentwicklung.

Untersuchungsmaterial.

Delphinium Ajacis, blühend und fruchtend, frisch oder in Alkohol. Blüten der Tulpe, Hyazinthe, Lilie oder Hemerocallis, frisch oder in Alkohol. Epipactis palustris oder eine andere Orchidee, blühend, frisch. Oenothera biennis, blühend, frisch. Aconitum Napellus, im Verblühen, frisch oder in Alkohol. Monotropa Hypopitys oder Gloxinia hybrida, im Verblühen, womöglich frisch. Torenia asiatica, bestäubte Blüten, frisch. Orchideen verblüht.

Butomus umbellatus, blühend. Solanum tuberosum, blühend. Papaver Rhoeas, blühend. Linum perenne, blühend. Datura Stramonium, blühend. Primula, blühend. Polygonum orientale, blühend. Liliaceen, Epipactis palustris, Atropa Belladonna Gramineen, Agrostemma Githago, Malvaceen, Blüten nach erfolgter Bestäubung. Monotropa Hypopitys mit Blütenknospen und Blüten. Alle diese Objekte frisch. Brassica napus, in der Entwicklung begriffene Blütenstände.

Wichtigste Reagentien.

Kalilauge. — Zuckerlösungen.

Wir orientieren uns zunächst ganz im allgemeinen über den Bau des Fruchtknotens[1]). Zu diesem Zweck eignet sich sehr gut eine Ranunculacee, z. B. der Garten-Rittersporn, Delphinium Ajacis. Wir wählen eine alte Blüte, von der die Blumenblätter und Staubblätter sich leicht entfernen lassen, und betrachten den in zentraler Lage stehengebliebenen Stempel (Pistillum). Wir unterscheiden an ihm den unteren, grünen, angeschwollenen Teil: den Fruchtknoten (Germen, Ovarium), von dem schmalen, hier rosa gefärbten Teil, in den sich der Fruchtknoten verengt: dem Griffel (Stylus). Letzterer endet mit der Narbe (Stigma), die in diesem Fall nicht besonders von ihm abgesetzt erscheint. — Wir stellen nunmehr Querschnitte durch den Fruchtknoten her und betrachten sie bei schwacher Vergrößerung, eventl. unter Zusatz von ein wenig Kalilauge. Der Querschnitt (Fig. 233) zeigt uns im Fruchtknoten nur eine einzige Höhle. Augenscheinlich rührt er von nur einem Fruchtblatt (Karpell) her, das sich nach innen zusammengelegt hat und dessen Ränder verwachsen sind. Auf diese Entstehung deutet noch die „Bauchnaht" hin, die wir

[1]) Fitting, Jost, Schenck, Karsten, Lehrbuch, 15. Aufl., 1921, S. 482 ff. K. Goebel, Organographie, 1. Aufl. 1898—1901, S. 784, bzw. den entspr. Abschnitt des zu erwartenden letzten Teils des Bd. III der 2. Aufl.

in der Mediane des Fruchtknotens an seiner nach der Mitte der Blüte zu gekehrten Kante finden. Ein solcher von einem einzigen Fruchtblatt gebildeter Fruchtknoten ist ein monomerer. Wenn eine größere Anzahl monomerer Fruchtknoten sich in einer Blüte vereinigt zeigt, so nennt man die Blüte polykarpisch. Der Fruchtknoten sitzt bei Delphinium dem Blütenboden auf; er heißt daher oberständig. Der ganze weibliche Geschlechtsapparat der Blüte, er mag aus einem oder aus zahlreichen Stempeln bestehen, wird als Gynaeceum bezeichnet. — Unsere Querschnitte zeigen an der Bauchseite eines jeden Fruchtknotens eine Furche, in der wir bei stärkerer Vergrößerung die Epidermis der Außenseite verfolgen können. Sie durchquert an dieser Stelle die ganze Dicke der Wand, um sich in die Epidermis der Fruchtknotenhöhle fortzusetzen. Interessant ist es, daß auch die Epidermis in der Fruchtknotenhöhle Spaltöffnungen führt. Die Fruchtknotenwandung wird von einer Anzahl Leitbündel durchzogen, von denen sich die meisten an der Rückenseite, einige nahe den Rändern des Fruchtblattes an der Bauchseite halten. Die Ränder des Fruchtblattes sind ein wenig angeschwollen und bilden die nach der Fruchtknotenhöhle zu vorspringenden Placenten (*p*). Von diesen gehen die Samenanlagen (*s*) aus, und zwar der Zahl der Placenten entsprechend in zwei Reihen. Mit den Samenanlagen wollen wir uns später beschäftigen und heben zu diesem Zweck unsere Präparate auf.

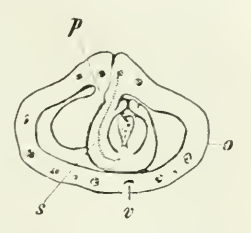


Fig. 233. Delphinium Ajacis. Querschnitt durch den Fruchtknoten. *o* Fruchtknotenwand; *v* Leitbündel in ihr; *p* Placenta; *s* Samenanlage. Vergr. 18.

In der Blüte vom Wasserliesch, Butomus umbellatus, finden wir, wie auch bei manchen Delphinium-Arten, z. B. D. elatum, eine größere Anzahl von Fruchtknoten und zwar hier sechs; während aber bei den Delphinium-Arten mit mehreren Fruchtknoten diese in ihrem ganzen Längsverlauf frei bleiben, sind sie bei Butomus nur noch in ihrer oberen Hälfte frei, in der unteren Hälfte sind sie seitlich miteinander verwachsen und lassen sich nicht unversehrt isolieren. Der Griffel ist sehr kurz, seine obere Kante stellt die Narbe dar. Wir führen Querschnitte durch die freien und die vereinigten Teile der Fruchtknoten aus. Das Bild der freien, oberen Teile ist im Hinblick auf das Fruchtblatt das nämliche wie bei Delphinium elatum, die einzelnen Fruchtblätter bleiben auch bis an ihren Grund gegeneinander abgegrenzt; allein in den unteren Teilen gelingt es uns auch an den Querschnitten nicht mehr, die einzelnen Fruchtblätter seitlich voneinander unversehrt zu trennen. Wir haben es bei Butomus mit einem Mittelding zwischen polykarpischen und monokarpischen Blüten zu tun, und dieses Beispiel ist geeignet, uns in die mehrfächerigen, aus mehr als einem Fruchtblatt gebildeten Fruchtknoten einzuführen. Außerdem ist uns aber als Novum noch eine andere Erscheinung bei Butomus entgegengetreten. Die Samenanlagen entspringen nicht allein an den Rändern, vielmehr, die Mediane ausgenommen, aus der ganzen inneren Fläche der Fruchtblätter: sie sind „flächenständig“. Die ganzen Wände sind mit Samenanlagen besetzt und fungieren als Placenten. An der Ansatzstelle jeder Samenanlage ist ein feines Leitbündel zu sehen, das die Samenanlage versorgt. Es sind Zweige der stärkeren, tiefer im Gewebe liegenden, größeren Leitbündel.

Der Fruchtknoten der Liliaceen ist dreifächerig. Wir wählen die Tulpe, Hyazinthe, eine Lilie oder Hemerocallis oder Yucca mit dem gleichen Erfolg zur Untersuchung. Bei der Tulpe sind die 3 Narbenlappen sitzend auf dem Fruchtknoten, ohne Griffel. Bei Hyacinthus ist der Griffel kurz, die Narbe klein, schwach dreiteilig; bei Lilium der Griffel lang, die Narbe dreiteilig; bei Hemerocallis der Griffel sehr lang mit ebenfalls dreiteiliger, doch sehr kleiner Narbe; bei Yucca der Griffel schwach entwickelt mit dreiteiliger Narbe. — Querschnitte zeigen uns den dreifächerigen Fruchtknoten aus drei geschlossenen und miteinander verwachsenen Fruchtblättern gebildet. Es läßt sich weder seitwärts, noch nach der Mitte zu eine Grenze zwischen den Geweben der einzelnen Fruchtblätter erkennen, und eine einzige, fortlaufende Epidermis deckt das ganze Gebilde von außen. Drei Fruchtblätter bilden hier somit einen polymeren, dreifächerigen Fruchtknoten. Jedes der drei zu diesem dreifächerigen Fruchtknoten vereinigten Fruchtblätter trägt an seinen beiden Rändern Samenanlagen; die Placenten liegen hier demgemäß in den inneren Winkeln der Fruchtknotenfächer. Die Placentation ist wie bei Delphinium eine randständige. Da die Winkel der Fächer, denen die Samenanlagen entspringen, eine mittlere Lage haben, so wird diese Placentation auch als zentrale bezeichnet. Querschnitte durch den Griffel von Hemerocallis führen uns einen mittleren, dreieckigen Gang, den „Staubweg", vor. Drei Leitbündel sind nach den 3 Kanten des Staubwegs verteilt. Ein Längsschnitt durch den Scheitel des Griffels und somit auch durch die Narbe zeigt uns die Oberfläche der letzteren in lange Papillen ausgewachsen. Diese kommen den Narbenflächen solcher Gewächse, deren Bestäubung durch Insekten vermittelt wird, allgemein zu. Die Kutikula dieser Papillen wird bei Hemerocallis durch Schleimbildung emporgehoben Das geschieht in Richtung einer Schraubenlinie, entsprechend der Streifung, welche die Kutikula zeigt. Zuletzt findet ihre völlige Ablösung von den darunter liegenden Membranschichten, evtl. auch Abstoßung von der Papille statt. — Die anderen Liliaceen führen uns ebenfalls einen hohlen Griffel vor; sonst ist der Griffel meist solid, doch von leicht aus dem seitlichen Verband tretenden, oder mit gequollenen Seitenwänden versehenen Zellen erfüllt, zwischen denen die Pollenschläuche unschwer abwärts wachsen können.

Im Grund der Blüte der Kartoffel, Solanum tuberosum, finden wir einen oberständigen, mit langem Griffel versehenen Fruchtknoten. Der Griffel endet mit einer zweilappigen Narbe von geringer Größe. Der Querschnitt durch den Fruchtknoten zeigt 2 Fächer. In jedes Fach ragt eine stark angeschwollene Placenta hinein. Sie verrät nicht ihre Zusammensetzung aus den beiden Rändern des entsprechenden Fruchtblattes; im Querschnitt erscheint sie meniskenförmig. Die ganze Oberfläche dieser Placenta ist mit zahlreichen Samenanlagen besetzt. In der zentralen Erweiterung der Scheidewände liegt jederseits ein Leitbündelpaar, dessen beide Bündel nach den entsprechenden Seiten hin die Placenten mit Leitbündelzweigen versorgen. Wir haben es somit bei Solanum mit einem oberständigen, polymeren Fruchtknoten zu tun, mit ebenfalls karpellbürtigen, randständigen Samenanlagen.

Beim Klatschmohn, Papaver Rhoeas, bzw. einer anderen Papaver-Art ist auch nur ein einziger, oberständiger Fruchtknoten in der Blüte vorhanden; dieser wird von einer etwas wechselnden Anzahl sitzender

Narbenlappen gedeckt. Die Narbenlappen sind seitlich verwachsen, nur am äußeren Rand springen sie frei vor. Jeder Lappen ist längs seiner Mitte mit einer Reihe violetter Papillen besetzt. Der Querschnitt zeigt eine den Nebenlappen entsprechende Anzahl vorspringender Scheidewände, die aber frei endigen, also die Mitte der Fruchtknotenhöhle nicht vollständig erreichen. Der Fruchtknoten ist somit einfächerig, mehrkammerig. Er ist aber zugleich polymer, denn er besteht aus mehreren Fruchtblättern, und zwar soviel, als Kammern vorhanden sind. Jede vorspringende Scheidewand entspricht den verwachsenen Rändern zweier benachbarter Fruchtblätter. Die Scheidewand bildet seitliche Ausstülpungen, die mit Samenanlagen besetzt sind. Diese Scheidewände sind somit als stark vorspringende Placenten und die Samenanlagen auch in diesem Fall als karpellbürtig, randständig aufzufassen. Die Insertion der Placenten wird aber, zum Unterschied von der vorhin betrachteten zentralen, als wandständige unterschieden, weil die Placenten der Wand des Fruchtknotens entspringen.

In der Blüte vom Dauer-Lein, Linum perenne, finden wir einen zentralen, oberständigen Fruchtknoten, der 5 meist violette Griffel trägt. Diese endigen mit gelben Narben, welche die Gestalt von Antheren haben, so daß man im ersten Augenblick wohl dazu neigen könnte, sie für solche zu halten. Die 5 Griffel alternieren mit 5 Staubblättern, die weiße Antheren tragen, und es muß bei Betrachtung zahlreicher Blüten auffallen, daß einmal die Narben höher, die Antheren tiefer in der Blüte stehen, daß ein anderes Mal gerade das umgekehrte Verhältnis vorliegt. Wir haben es hier mit einer dimorphen Pflanze zu tun. Es ist für solche nachgewiesen, daß die in gleicher Höhe stehenden Geschlechtsorgane verschiedener Blüten am besten sich befruchten. Es ist aber auch tatsächlich die größte Wahrscheinlichkeit vorhanden, daß Insekten beim Besuch der Blüten gleichhoch gelegene Organe mit gleichen Teilen des Körpers berühren. Die vorliegende Einrichtung, Heterostylie genannt, wird somit der Fremdbestäubung dienlich sein[1]. — Die Narben haben, wie wir schon sahen, die Gestalt von Antheren und sitzen einseitig den Griffeln, so wie etwa Antheren den Filamenten, an. Ihre ganze, freie Oberfläche, mit Ausnahme der Insertionsstelle, ist mit kurzen, stark keulenförmig angeschwollenen Papillen besetzt; durch Druck lassen sich diese leicht von der Narbenfläche ablösen. — Wir stellen Querschnitte durch eine junge Fruchtanlage her, kurz nachdem die umgebenden Blütenteile abgefallen sind. Es ist bequemer, durch solche etwas größer gewordene Anlagen zu schneiden, nur dürfen sie nicht zu alt sein, da sie dann hart werden. Der Querschnitt zeigt uns einen scheinbar zehnfächerigen Fruchtknoten, mit sehr schmalen Fächern, in denen das Messer je eine Samenanlage trifft. Bei näherer Betrachtung überzeugen wir uns, daß der Fruchtknoten in Wirklichkeit nur fünffächerig ist, und daß fünf der vorhandenen Scheidewände frei endigen, freilich meist den inneren Winkel der Fächer vollständig oder fast vollständig mit ihrem Rand erreichend. Wir haben somit einen fünffächerigen Fruchtknoten vor uns, dessen Fächer durch je eine „falsche Scheidewand" in 2 Kammern geteilt erscheinen. Diese falschen Scheidewände sind Wucherungen aus der Mediane der Fruchtblätter. Da in jedem Fach nur 2 Samenanlagen gebildet werden, so kommt damit jeder Same in seine eigene Kammer zu liegen. Die Samenanlagen entspringen den inneren Winkeln und zwar im oberen Teil der Fächer. — Bei Boraginaceen und Labiaten werden

[1] Vgl. jedoch dazu G. TISCHLER, u. a. im Biol. Zentralbl., Bd. XXXVIII, 1918, S. 461ff.

die 2 Fächer des Fruchtknotens frühzeitig durch falche Scheidewände in 4 vollständige „Klausen“ geteilt. Diese sind es, die der Beobachter nach Entfernung der Blumenblätter in der Blüte einer Borago- oder einer Salvia-Art deutlich sehen kann. Die 4 Klausen wölben sich als gesonderte Höcker vor und zwar bei Salvia so bedeutend, daß sie wie gesonderte Fruchtknoten aussehen. Tief zwischen den 4 Höckern entspringt der lange Griffel. — Auffallend ist bei Salvia der dicke gelbe Ring (Torus), der den Fruchtknoten an der Basis umgibt und als Nectarium fungiert.

Der Fruchtknoten vom Stechapfel, Datura Stramonium, ist nach dem Typus der anderen Solaneen, so der vorhin betrachteten Kartoffel, gebaut, doch dadurch auffallend, daß er vierfächerig ist. Bei näherer Betrachtung des Querschnittes zeigt es sich aber, daß auch hier zwei aus der Mediane der beiden Fruchtblätter entspringende Scheidewände „falsch“ sind. Die falschen Scheidewände stoßen an die Placenten. Die Scheidewände hingegen, die bis zum Mittelpunkt des Fruchtknotens laufen, sind echt. Sie entsprechen den eingeschlagenen und verwachsenen Seitenflächen der beiden, den Fruchtknoten bildenden Karpelle. Nachdem diese die Mitte erreicht, biegen sie in die Fächer ein, trennen sich schließlich voneinander und schwellen an ihren Rändern zu den starken, mit zahlreichen Samenanlagen besetzten Placenten an. An jene Stelle, an der die Karpellränder seitwärts ausbiegend sich voneinander trennen, setzen die falschen Scheidewände an. Eine Grenze zwischen den Geweben der falschen und der echten Scheidewände ist aber nicht vorhanden, die ersteren gehen kontinuierlich in die letzteren über. — An seiner Oberfläche ist der Fruchtknoten mit starken Auswüchsen bedeckt, aus denen die Stacheln der Frucht hervorgehen. Merkwürdig sind diese Emergenzen noch besonders dadurch, daß sie mit Leitbündelzweigen versorgt werden.

Einen oberständigen Fruchtknoten besitzen die Blüten der Primula-Arten. Diese Blüten sind dimorph, wie bei Linum perenne (S. 607). An einem medianen, durch den Fruchtknoten geführten Längsschnitt scheint die Blütenachse sich in die Fruchtknotenhöhle fortzusetzen, um dort hutpilzförmig anzuschwellen. Man nimmt aber aus vergleichend-morphologischen Gründen an, daß dieses zentrale Gebilde als ein Teil der Karpellblätter aufzufassen ist, der die Blütenachse fortsetzt. An seinem Scheitel ragt dieses Gebilde in den Staubweg des Griffels hinein. Seine ganze Oberfläche ist mit Samenanlagen besetzt. Wir haben es mit einer freien, zentralen Placenta zu tun. Mit dieser Placenta hängt die Wandung des Fruchtknotens nirgends zusammen. Dies zeigen uns ganz überzeugend die Querschnitte, in denen die Fruchtknotenwandung als freier Ring um die zentrale Placenta erscheint. Es fehlen auch an jenem Ring die Anhaltspunkte, um die Zahl der die Fruchtknotenwandung bildenden Fruchtblätter zu bestimmen; diese wird aber im Hinblick auf die Zahlenverhältnisse der anderen Blütenteile und auf den Umstand, daß bei manchen Primulaceen die Fruchtkapsel mit 5 Zähnen an ihrem Scheitel sich öffnet, zu 5 angenommen. Bei Primula selbst ist die Zahl der Zähne, mit der die Kapsel sich öffnet, unbestimmt. — Statt Primula können mit demselben Erfolg Lysimachia- oder Anagallis-Arten zur Untersuchung dienen, sie tragen alle ihre Samenanlagen an einer freien, zentralen Placenta.

Wir untersuchen hierauf ein Knöterich-Gewächs, am besten vielleicht das in Gärten verbreitete Polygonum orientale. Wir sehen an der Blüte das rosa gefärbte, fünfblättrige Perigon, 7 Staubblätter und, mit diesen

alternierend, ebensoviele kleine, gelbe Nectarien, ferner im Zentrum der Blüte einen oberständigen, etwas abgeflachten Fruchtknoten, der einen an der Spitze sich gabelig teilenden und 2 Narben tragenden Griffel zeigt. — Wir entfernen die übrigen Blütenteile und lassen nur den Fruchtknoten am Blütenstiel. Durch diesen machen wir, indem wir ihn flach zwischen Daumen und Zeigefinger halten, mediane Längsschnitte. Ist der Längsschnitt richtig geführt, so hat er das Aussehen der Fig. 234. Man kann das Bild mit Kalilauge durchsichtiger machen. Die Fruchtknotenhöhle wird hier von einer einzigen „terminalen" Samenanlage (*sm*) erfüllt, die in der Verlängerung der Blütenachse steht. Man sieht ein zartes Leitbündel (*v*) durch den Blütenboden sich bis an den Grund der Samenknospe, den Knospengrund (Chalaza), fortsetzen. Auch in der Fruchtknotenwandung sind nach Kalilauge-Behandlung meist deutlich die Leitbündel (*v*) zu sehen. Der Fruchtknoten ist einfächerig, doch läßt die Gabelung des Griffels (*st*) und das Vorhandensein der 2 Narben (*s*) auf 2 Fruchtblätter schließen. Die Zellen der Narbenoberfläche springen in diesem Fall nur sehr wenig hervor, bilden somit keine auffallenden Papillen. — Von Interesse ist es, einen medianen Längsschnitt auch noch durch eine ganze Blüte zu führen, um sich hier den Bau der Nektarien näher anzusehen. Ist der Schnitt zart genug, so erkennen wir, daß das Nektarium (*n*) aus dünnwandigen, parenchymatischen, etwas gestreckten, und der Streckung gemäß in Längsreihen angeordneten Zellen besteht. Die Zellen führen eine ölige, gelbe Substanz, die dem ganzen Organ die betreffende Farbe verleiht. Das Nektarium erscheint als Auswuchs aus dem Grund der Perigonblätter, auf deren Oberfläche die Längsreihen seiner Zellen hinführen.

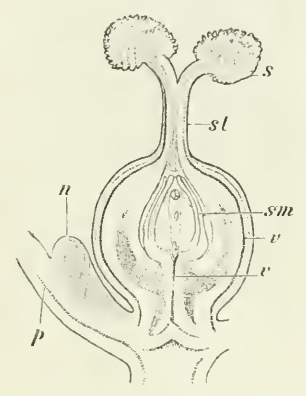


Fig. 234. Polygonum orientale. Längsschnitt durch den Fruchtknoten. *s* Narbe, *st* Griffel, *sm* Samenanlage, *n* Nektarium, *p* Perigonblatt, *v* Leitbündel, das unter der Samenanlage endet, ferner Leitbündel in der Fruchtknotenwandung. Vergr. 18.

Wir untersuchen jetzt einen unterständigen Fruchtknoten, und zwar zunächst jenen des Sumpfwurz, Epipactis palustris, oder einer anderen Orchidee. Der braune Fruchtknoten liegt unter der Insertion der übrigen Blütenteile. Wir wählen zum Schneiden eine junge Fruchtanlage, über der die Blumenblätter sich bereits zu bräunen begonnen haben. Die Querschnitte sind sehr lehrreich, sie zeigen uns einen einfächerigen Fruchtknoten, der in gleichen Abständen an der Wand 3 Doppelpaare von Placenten trägt. Die Placenten spalten sich wiederholt an ihren Rändern und tragen eine große Anzahl von Samenanlagen. Die Fruchtknotenwandung führt an ihrer Außenseite 6 vorspringende Rippen, von denen 3 den Insertionsstellen der Placenten entsprechen, 3 besonders kräftige mit diesen Insertionsstellen alternieren. Jede Rippe ist von einem Leitbündel bzw. einem Leitbündelkomplex durchzogen, außerdem liegt noch je ein kleines Bündel an der Trennungsstelle zweier Placenten. Bei einem oberständigen Fruchtknoten, dessen Querschnitt mit dem hier beobachteten völlig übereinstimmen könnte, würden wir keinerlei Bedenken tragen, den Frucht-

knoten als aus 3 Fruchtblättern gebildet zu betrachten und in den Placentenpaaren die eingeschlagenen Ränder je zweier angrenzender Fruchtblätter zu erblicken; die drei mit den Insertionslinien der Placenten abwechselnden Rippen würden wir für die Medianen der 3 Fruchtblätter erklären; da es sich nun aber um einen unterständigen Fruchtknoten handelt, so liegt die Sache weniger einfach. Entweder können wir uns nämlich vorstellen, daß die Fruchtblätter des unterständigen Fruchtknotens mit der ausgehöhlten Blütenachse verwachsen sind, in der Wandung des unterständigen Fruchtknotens somit der äußere Teil dem Stengel, der innere den Fruchtblättern angehört, oder wir können uns denken, daß alle Blütenwirtel hier untereinander verwachsen sind und ein Organ bilden, dessen Inneres von den Fruchtblättern ausgekleidet ist[1]). Diese Deutungen haben aber nur einen phylogenetischen Wert, d. h. wir stellen uns vor, daß der unterständige Fruchtknoten im Laufe der Zeiten so entstanden sein kann. Tatsächlich fehlen hier aber an dem Objekt selbst die anatomischen und entwicklungsgeschichtlichen Momente für eine solche Auffassung und wir können uns somit auch damit begnügen, festgestellt zu haben, daß der Bau dieses unterständigen Fruchtknotens nicht anders als jener eines polymeren, einfächerigen, oberständigen ist. — Stehen uns reife Fruchtkapseln von Epipactis zur Verfügung, so werden wir bei diesen, sowie bei den der meisten anderen Orchideen finden, daß die Wand der „Kapseln“ mit 6 Längsspalten aufspringt. Die 6 die Spalten trennenden Leisten bleiben am Grund und am Scheitel des Fruchtknotens vereinigt. 3 von ihnen sind breiter und fertil, 3 schmäler und steril. Die 3 sterilen entsprechen den median gestellten Rippen, die wir auf dem Querschnitt des Fruchtknotens sahen, sie bilden die sog. Zwischenstücke; die 3 fertilen Leisten tragen auf ihrer Mitte die Placenten.

Einen mehrfächerigen, unterständigen Fruchtknoten sehen wir uns bei der zweijährigen Nachtkerze, Oenothera biennis, oder einer anderen Oenothera-Art an. Der Fruchtknoten liegt hier ganz tief unten an der Insertionsstelle der Blüte. Der Querschnitt zeigt 4 Fächer. Die Placenten entspringen den inneren Winkeln der Fächer, sie ragen in das Innere des Faches etwas vor und tragen jede 2—3 Reihen von Samenanlagen. Der Mediane jedes Faches entspricht eine Einsenkung. An diesen Stellen liegen schwache Leitbündel, ein kräftiges, äußeres und ein schwächeres, inneres vor den Scheidewänden. Das innere ist durch horizontale Seitenzweige, die der Querschnitt öfters bloßlegt, mit den Bündeln verbunden, die das zentrale, zwischen den 4 Fächern gelegene Gewebe erfüllen. Diese ihrerseits versorgen die Placenten. Die Fruchtknotenwandung führt zahlreiche Rhaphiden, die, aus ihren Zellen getreten, über den ganzen Schnitt zerstreut liegen.

Wir haben bereits wiederholt Pollenkörner, die Schläuche getrieben hatten, von der Narbe abgehoben, wir wollen es nunmehr versuchen, sie bis in die Fruchtknotenhöhle hinein zu verfolgen[2]). Sehr leicht gelingt dies an dem Stempel einer Liliacee, deren Narbe wir etwa 48 Std. zuvor

[1]) K. Goebel, Bot. Ztg., XLIV. Jahrg., 1886, Sp. 729 ff.

[2]) Vgl. hierzu E. Strasburger, Neue Unters. über den Befruchtungsvorgang bei den Phanerogamen, 1884, S. 35.

mit Pollen reichlich bestäubt haben. Stellen wir einen medianen Längsschnitt, der den Griffel in sich faßt, durch diesen Stempel her, so können wir leicht den Pollenschläuchen von der Narbe durch den Griffel bis in die Fruchtknotenhöhle hinein folgen[1]). Ziehen wir mit Nadeln die Griffelwände auseinander, so treten uns die Pollenschläuche noch deutlicher entgegen. Sie zeigen in ihrem Innern zahlreiche mehr oder weniger regelmäßig ausgebildete, homogen erscheinende Membranpfropfen, die wir schon bei unseren künstlichen Pollenschlauch-Kulturen kennenlernten. Diese Pfropfen werden in Abständen vom Protoplasma aus erzeugt und so die sich entleerenden Teile des Schlauches nacheinander abgeschlossen. Entsprechende Beobachtungen sind gleich leicht an Lilium-, Ornithogalum-, Hyacinthus-, Scilla-Arten und auch an anderen Liliaceen anzustellen. Bei Lilium-Arten wachsen die Pollenschläuche an den einzelligen, keulenförmigen Papillen der Narbe abwärts, setzen ihren Weg am Grund zwischen diesen Papillen fort und gelangen so in einen der 3 Spalte, mit denen der Griffelkanal zwischen Narbenlappen endet. Die drei engen Spalte gehen in den dreieckigen, mit vorgezogenen Kanten versehenen Griffelkanal über. Die Zellen, die diesen Kanal auskleiden, sind nach ihm zu etwas vorgewölbt; sie zeigen sich an der dem Kanal zugekehrten Seite mit homogenem, stark lichtbrechendem Inhalt, im übrigen mit brauner Substanz erfüllt. Nach dem Kanal zu sind die äußeren Schichten ihrer Wand verquollen. In dem so gebildeten Schleim wachsen die Pollenschläuche abwärts, wobei sie sich vornehmlich in den Winkeln des Kanals, der sie nach den 3 Fruchtknotenfächern hinleitet, halten. Nicht minder günstig sind auch die Orchideen, von denen wir mit gleichem Erfolg Orchis, Gymnadenia, Epipactis oder andere Gattungen in Untersuchung nehmen können. Bestäuben wir beispielsweise mit dem einer anderen Blüte entnommenen Blütenstaub die Narben einer Anzahl Blüten von Epipactis palustris. Die Pollentetraden beginnen alsbald ihre Schläuche zu treiben und haben nach etwa 3 Tagen die Fruchtknotenhöhle erreicht. Innerhalb dieser wachsen sie an den Placenten weiter, durch den Schleim geleitet, zu welchem die äußeren Zellwände dort verquellen. Dies stellen wir an medianen Längsschnitten (Fig. 235) fest, die wir 3—5 Tage nach der Bestäubung durch die betreffenden Blüten führen. Um uns diese Aufgabe zu erleichtern, begnügen wir uns mit der oberen Fruchtknotenhälfte und entfernen auch die Blumenblätter. Der Längsschnitt muß durchaus median sein

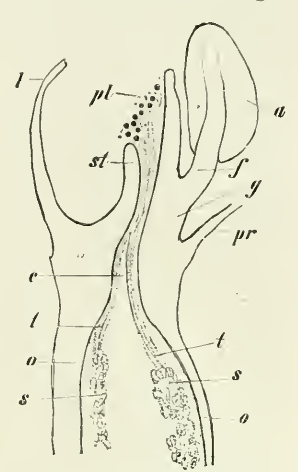


Fig. 235. Längsschnitt durch den oberen Teil einer bestäubten Blüte von Epipactis palustris, *o* Fruchtknotenwandung, *s* Samenanlagen, *l* unterer Teil des als Unterlippe (Labellum) bezeichneten Blumenblattes, *pr* unterer Teil des in der resupinierten Blüte median nach oben stehenden Perigonblattes, *f* das Filament, *a* die Anthere, *g* der aus Griffel und Filament bestehende Teil, das Gynostemium, *st* oberer Teil des Griffels, *pl* die auf der Narbe befindlichen Pollenkörner, *t* die Pollenschläuche, *c* der mit den Nadeln erweiterte Staubweg. Vergr. 12.

[1]) Über die Pollenschlauch-Leitungswege bei den Vertretern der verschiedenen Pflanzenfamilien vgl. u. a. die Angaben von F. Guéguen, Journ. de Bot., Bd. XV, 1901, S. 265 ff., und Bd. XVI, 1902, S. 15 ff.

und läßt sich am besten zwischen Daumen und Zeigefinger herstellen. Hierauf ziehen wir noch unter dem Präpariermikroskop die Wände des Staubwegs etwas auseinander, was leicht auszuführen ist. Es zeigt sich dann ein der Figur 235 ähnliches Bild. Wir sehen oben einerseits die Anthere (*a*), andererseits das durchschnittene Labellum (*l*). Die Anthere wird von dem Filament (*f*) getragen, das nur in seinem oberen Teil frei, weiter abwärts mit dem Griffel zu dem für die Orchideen charakteristischen Gynostemium (*g*) verwachsen ist. Der Griffel selbst schließt mit der Narbe (*st*) ab, die sich von den Pollentetraden (*pl*) bedeckt zeigt. Der künstlich erweiterte Staubweg zeigt uns die abwärts wachsenden Pollenschläuche (*t*), die nach ihrem Eintritt in die Fruchtknotenhöhle sich auf die 3 Placenten verteilen und alsbald zwischen die Samenknospen (*s*) gelangen. Bei stärkerer Vergrößerung lassen sich auch hier im Innern der Pollenschläuche die sehr zahlreichen Membranpfropfen nachweisen, die den Schlauch hinter dem fortschreitenden Protoplasma von Zeit zu Zeit abschließen.

In den geschilderten Fällen folgen die Pollenschläuche dem Griffelkanal, ohne in ein geschlossenes Gewebe einzudringen. Letzteres geschieht aber in der vorwiegenden Mehrzahl der Fälle. Sehr leicht wird den Pollenschläuchen diese Aufgabe gemacht bei den Solanaceen. Ein medianer Längsschnitt durch den Stempel der Tollkirsche, Atropa Belladonna, zeigt uns im Griffel einen zentralen Gewebestrang aus langgestreckten Zellen, die gequollene Längswände haben und sich sehr leicht durch Druck in longitudinale Zellreihen spalten lassen. Dieser Gewebestrang stellt das leitende Gewebe des Griffels vor. Seine Zellreihen setzen sich, fächerförmig ausstrahlend, in das Gewebe der sattelförmigen, schwach zweiteiligen Narbe fort. Sie finden dort in den kegelförmigen Papillen der Epidermis ihren Abschluß. Auch letztere treten leicht aus dem seitlichen Verband; die Pollenkörner können daher unschwer ihre Schläuche zwischen die Zellreihen der Narbe treiben und gelangen, durch diese geführt, weiter in das leitende Gewebe des Griffels.

Aber auch zwischen relativ fest verbundene Elemente der Narbenoberfläche gelingt es den Pollenschläuchen einzudringen, wie wir dies u. a. bei Gramineen beobachten können (vgl. a. S. 598 u. d. XXX. Abschn. bei Triticum vulgare). In selteneren Fällen wachsen die Pollenschläuche in das Innere der Narbenpapillen hinein. Ein besonders lehrreiches Beispiel dieser Art bietet uns die Kornrade, Agrostemma Githago. Die 5 Griffel sind an ihren inneren Flächen, den Narbenflächen, mit langen, kegelförmigen Papillen besetzt, und zwar wächst dort jede Zelle an ihrem oberen Rand in eine solche Papille aus. Die Außenfläche und die Flanken der Griffel tragen lange, stark verdickte und zugespitzte Haare, deren von einer Zelle gebildeter Körper leicht von einem zweizelligen Träger abfällt. In den Narbenpapillen ist Protoplasmaströmung zu beobachten. Die Pollenkörner bleiben an den Papillen haften; sie besitzen wohl 50—60 Austrittsstellen, treiben aber doch nur einen oder nur wenige Schläuche. Jede Austrittsstelle ist von einem zarten Deckel bedeckt, der von dem austreibenden Schlauch zur Seite gedrängt wird. Der Pollenschlauch löst die Wand der Papille an der Berührungsstelle und dringt in sie ein. Das ist leicht an Griffeln festzustellen, die man etwa der Länge nach zwischen den Fingern gespalten hat. Auch kann ein Pollenkorn 2 Schläuche in dieselbe Papille oder je einen in verschiedene Papillen treiben. Nur ein Schlauch entwickelt sich definitiv weiter. Der Pollenschlauch bleibt in der

Papille dünn oder füllt sie auch wohl aus. Im ersteren Fall kann die Plasmaströmung in der Papille fortdauern. Hat die Pollenschlauchspitze auf kürzestem oder auf längerem Wege die Basis der Papille erreicht, so durchbricht sie diese, um zwischen die Zellen des Griffels zu treten. Sie wächst zwischen den Zellen dort abwärts. Das von Inhalt völlig entleerte Pollenkorn stülpt sich kalottenförmig ein und fällt schließlich ab, so daß an den Papillen alsdann nur noch Pollenschlauchfortsätze zu finden sind.

Auch die Pollenschläuche der Malvaceen dringen in die Narbenpapillen ein. Die Papillen, welche die Griffel an ihrer inneren Fläche, der Narbenfläche, tragen, sind ziemlich lang, dünnwandig, zugespitzt. Wie wir bereits wissen, treiben die Pollenkörner von Malva zahlreiche Pollenschläuche. Diese erleichtern das Treffen und Sichbefestigen der Pollenkörner auf den Papillen. Nur einzelne Schläuche dringen in die Papillen ein, und eingehende Untersuchung lehrt, daß in allen Fällen von einem Pollenkorn nur ein Schlauch sich schließlich weiter entwickelt und im Griffel abwärts wächst. Die Schläuche füllen die Papillen dicht aus und durchbrechen sie an der Basis. An Alkohol-Material, das man mit Karbol-Alkohol durchsichtig gemacht hat und nun in Glyzerin untersucht, kann man ohne weitere Präparation feststellen, daß der Pollenschlauchinhalt innerhalb des Griffelgewebes sich meist zu einer in der Längsrichtung gestreckten Masse sammelt, die als dicker Schlauch im leitenden Gewebe zwischen den Zellen abwärts wächst. Membranpfropfen werden in den sich entleerenden, äußerst zarten Schlauchteilen nicht gebildet. Die ganze Plasmamasse des Pollenkorns erinnert hier in ihrem Fortschreiten an ein Plasmodium. Das leitende Gewebe der Griffelsäule setzt sich in die Achse des Fruchtknotens fort. Ist die Griffelsäule von den Inhaltsmassen der Pollenkörner entleert, so wird sie samt dem Androeceum und der welken Blumenkrone abgeworfen. Im Grund des Stempels verteilt sich das leitende Gewebe auf die einzelnen, mit je einer anatropen Samenknospe versehenen Fächer. Diese Samenknospen sind im Innenwinkel der Fächer inseriert und kehren ihre Mikropyle nach unten. Letztere rückt bis unter die Insertionsstelle des Funiculus und biegt sich dort dem eintretenden Leitungsstrang entgegen.

Um die Einzelheiten im Pollenschlauchinhalt genauer zu studieren, muß man das Mikrotom zu Hilfe nehmen und geeignete Fixierungs- und Färbungsmethoden anwenden. Gute Resultate erhält man bei Objekten, bei denen die Pollenschläuche innerhalb eines Griffelkanals nach der Fruchtknotenhöhle zu wachsen, wie bei Lilium, wenn man das Fixierungsmittel — bes. bewährte sich das Flemmingsche Gemisch — mittels einer kleinen Spritze in den Griffelkanal durch dessen abgeschnittene Basis einführt, den Griffel dann in Stückchen zerlegt und in die Fixierungsflüssigkeit bringt, worin diese sofort untersinken[1]). Meist gelingt eine gute Fixierung aber schon, wenn man den Griffel der Länge nach vorsichtig halbiert bzw. öffnet und in die Lösung einlegt. Als Färbungsmittel leisten Safranin-Gentianaviolett-Orange, ferner Heidenhains Eisen-Hämatoxylin gute Dienste[2]). Man kann auch so verfahren, daß man die Pollenkörner auf Deckgläschen, die mit 1-proz. Zuckeragar ($1^0/_0$ Agar) beschickt sind, in der feuchten Kammer keimen und weiterwachsen läßt, wenn sie den ge-

[1]) S. Nawaschin, Ann. Jard. Bot. Buitenzorg, 2. Ser., Suppl. III, 1910, S. 873.
[2]) M. Koernicke, Flora, Bd. XCVI, 1906, S. 510.

wünschten Entwicklungsgrad erreicht haben, auf dem Deckgläschen mit Chrom-Essigsäure oder 2-proz. Osmiumsäure fixiert und nach kurzer Wässerung durch Betropfen mit Aq. dest. etwa 1 Std. in einer Lösung von Fuchsin und Malachitgrün in 25-proz. Alkohol färbt. Nach Auswaschen in Alk. abs. folgt Übertragen in Xylol und Einschließen in Kanadabalsam. Gut gefärbte Präparate zeigen das Pollenschlauchplasma und den vegetativen Kern rot, das Plasma der generativen Zelle blaurot und den generativen Kern blau[1]). — Haben die Pollenschläuche, bis sie zum Embryosack gelangen, bestimmte Gewebepartien des Stempels, bzw. der Samenanlage zu durchwachsen, so ist ihr Nachweis dort nicht immer leicht. Vielfach treten sie aber, da sie plasmareicher sind, als die sie umgebenden Zellen, und die Farbstoffe, mit denen die Präparate gefärbt werden, intensiver festhalten, schon so deutlich hervor. So halten sie nach Färbung mit Safranin-Gentianaviolett-Orange auch bei längerer Einwirkung des Orangefarbstoffs im Gegensatz zu den umgebenden Zellen das Gentianaviolett besonders stark fest[2]); bei Behandlung mit Heidenhainschem Eisen-Hämatoxylin treten sie tiefschwarz aus dem benachbarten Gewebe hervor[3]). Ferner kann ihr in manchen Fällen beträchtlicher Gehalt an Stärke durch Anwendung von Jodlösungen beim Studium des Pollenschlauch-Verlaufs wertvoll werden, ebenso der Gehalt bestimmter Membranpartien des Pollenschlauchs an Stoffen, der bewirkt, daß diese Membranteile im Gegensatz zur Umgebung durch Anilinblau lebhaft gefärbt in den geeignet vorbehandelten Präparaten (vgl. Reg. IV Pollenschlauch) deutlich hervortreten[4]).

Wir wollen jetzt versuchen, uns mit dem Bau der Samenanlagen bekannt zu machen und gleichzeitig die Befruchtungsvorgänge bei Angiospermen zu verfolgen. Um die einzelnen Teile der Samenanlage kennenzulernen, führen wir zunächst Querschnitte durch die Fruchtknoten vom blauen Eisenhut, Aconitum Napellus, oder von einer anderen Aconitum-Art aus. Wir wählen eine im Verblühen begriffene Blüte, streifen die übrigen Blütenteile ab und schneiden nun gleichzeitig durch die 3 Fruchtknoten. Zu beachten ist, daß die Schnitte wirklich rechtwinklig die Längsachsen der einzelnen Fruchtknoten treffen. Die Zahl der Schnitte muß eine recht große sein, da es der Zufall nur fügen kann, daß wir eine Samenanlage richtig treffen. Wir durchmustern die Schnitte und suchen uns die entsprechenden aus. Falls der Schnitt nicht zart genug ist, können wir mit ein wenig Kalilauge nachhelfen. Ist eine Samenanlage median getroffen, dann sieht sie wie die in Fig. 236 dargestellte aus. Der Fruchtknoten ist monomer, die Samenanlage entspringt einer randständigen Placenta. Sie ist an ihr mit einem Stielchen, Funiculus (*f*), befestigt, dessen freier Teil nur sehr geringe Länge besitzt, das im übrigen mit dem Körper der Samenanlage sich verwachsen zeigt, an ihm die sog. Samennaht, Raphe (*r*), bildend. An dem Körper der Samenanlage, die dem Makrosporangium der Gefäßkryptogamen entspricht, unterscheiden wir vor allem die innere, kegelförmige Gewebemasse als Knospenkern, Nucellus (*n*). Er wird von 2 Integumenten umhüllt, einem

---

[1]) Fr. Herrig, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXXVII, 1919, S. 450.

[2]) Ch. H. Shattuck, Bot. Gaz., Bd. XL, 1905, S. 209.

[3]) N. Albanese, Sitzber. Akad. Wiss. Wien, Math.-Nat. Kl., Bd. CXIII, 1. Abt., S. 654.

[4]) L. Jost, Bot. Ztg., LXV. Jahrg., 1. Abt., 1907, S. 84.

inneren (*ii*) und einem äußeren (*ie*). Das innere Integument ist allseitig bis an die Basis des Nucellus entwickelt, das äußere fehlt an der Funikularseite, indem es beiderseits an den Funiculus ansetzt. Das innere Integument läßt zwischen seinen oberen Rändern einen engen Kanal frei, der bis auf den Nucellus reicht, die Mikropyle (*m*). Der Funiculus wird von einem aus der Placenta stammenden Leitbündel durchsetzt, das in manchen, doch nicht in allen Fällen bis unter die Basis des Nucellus zu verfolgen ist. Das an der Basis des Nucellus gelegene, hier durch eine hellere Färbung ausgezeichnete Gewebe wird als Knospengrund (Chalaza) (*ch*) bezeichnet. In der Längsachse des Nucellus zeichnet sich eine größere, einen Hohlraum bildende Zelle aus; es ist das der Embryosack (*e*). An seinem Grund bemerkt man einige kugelige Zellen, die bei Aconitum (wie bei den Ranunculaceen überhaupt) sehr stark entwickelten Gegenfüßlerinnen (Antipoden) (*a*). In besonders günstigen Fällen kann man feststellen, daß sie in Dreizahl vorhanden sind. Im Scheitel des Embryosacks sieht man wohl auch eine kleine Zelle, die aber nur auf rein medianen Schnitten sich nachweisen läßt, das Ei (*o*); ferner nach der Embryosackmitte zu gerückt den sog. sekundären Embryosackkern (*nc*). Die ganze Samenanlage ist als anatrope, d. h. umgewendete zu bezeichnen, weil der Körper der Samenanlage nicht die gerade Fortsetzung des Funiculus bildet, sondern an ihm umgelegt erscheint, mit ihm einseitig verwachsen ist und seine Mikropyle der Basis des Funiculus zukehrt. Diese Form der Samenanlage herrscht bei den Angiospermen vor. Vergleichen wir jetzt unser Präparat von Delphinium (Fig. 233) mit jenem von Aconitum (Fig. 236), so sehen wir, daß der Bau der Fruchtknoten und Samenanlagen in beiden Fällen fast identisch; ist der Unterschied besteht nur darin, daß bei Delphinium die beiden Integumente der Samenanlage miteinander verschmolzen sind. — Wir können auch, um Schnitte durch die Samenanlagen von Aconitum zu erlangen, diese Anlagen aus dem Fruchtknoten befreien und nach der uns bereits bekannten Methode (S. 345) einzeln schneiden. Ist die Samenanlage richtig zwischen den Fingern orientiert worden, so gelangen wir auf diesem Wege sogar schneller zu rein medianen Ansichten.

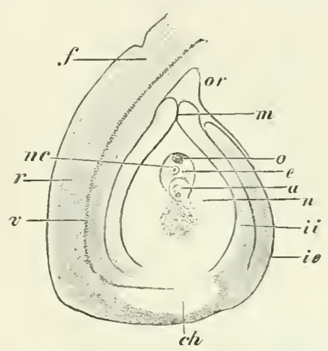


Fig. 236. Aconitum Napellus; medianer Längsschnitt einer Samenanlage; f Funiculus; r Raphe, v Leitbündel des Funiculus; *ie* äußeres Integument; *ii* inneres Integument; *n* Nucellus; *ch* Chalaza; *e* Embryosack; *a* Gegenfüßlerinnen; *o* das Ei; *nc* sekundärer Embryosackkern; *m* Mikropyle; *or* Fruchtknotenwandung. Vergr. 53.

Wir kehren jetzt zu unseren Längsschnitten durch den Fruchtknoten von Polygonum orientale zurück und sehen uns eine median getroffene Samenanlage bei stärkerer Vergrößerung an (Fig. 237). Der Schnitt kann mit Kalilauge durchsichtiger gemacht werden. Die Samenanlage ist hier eine atrope, d. h. nichtgekrümmte, oder richtiger ausgedrückt, eine gerade. Die Längsachse der Samenanlage liegt in der Verlängerung des Funiculus (*f*). Die Mikropyle (*m*) befindet sich der Insertionsstelle des Funiculus gegen-

über. An dem Körper der Samenanlage erkennen wir leicht den Nucellus (*n*) wieder, die beiden Integumente (*ii* und *ie*), die Mikropyle (*m*), in die hinein sich der Scheitel des Nucellus warzenförmig fortsetzt. Der Funiculus ist auf die Insertionsstelle reduziert, ein Leitbündel tritt in ihn ein und erlischt unter der Basis des Nucellus. Die Längsachse des Nucellus wird von dem gestreckten Embryosack eingenommen. Von den Gegenfüßlerinnen und dem Ei ist an dem frischen Präparat nichts zu sehen. (Sie sind in unser Bild nach Alkohol-Material eingetragen.)

Jetzt nehmen wir das Studium des Embryosack-Innern vor. Das beste Objekt ist hierfür Monotropa Hypopitys, der gemeine Fichtenspargel[1]). Die blaßgelbe Pflanze trifft man namentlich in Kiefernwäldern nicht selten an; in manchen Gegenden ist sie sehr verbreitet. Sie ist für die sonst schwierige Untersuchung des Embryosacks so günstig, daß wir keine Mühe scheuen sollten, um die Pflanze zu erlangen. Sie blüht im Juni und Juli und sollte nur frisch untersucht werden. Sieht man sich gezwungen, sie in Alkohol für später einzulegen, so versetze man diesen mit Schwefeldioxyd, da in reinem Alkohol das Objekt dunkelbraun wird. Man leitet zu diesem Zweck Schwefeldioxydgas in Alkohol ein. Die ganze Operation dauert 1 Min., wenn man Natriumsulfit ($NaSO_3$) in einem Gefäß mit etwa 80-proz. Schwefelsäure übergießt und das sich entwickelnde Gas in den Alkohol einführt; auf je 100 ccm Alkohol etwa $\frac{1}{2}$ g Natriumsulfit[2]). Die Pflanze hat etwa 24 Std. in diesem Alkohol zu verweilen und wird dann in reinen Alkohol übergeführt. — Die frischen Pflanzen können übrigens längere Zeit gesund in einem Wasserglas ausharren. Ähnlich wie Monotropa verhalten sich die Pirola-Arten, doch sind die Samenanlagen kleiner. — Der Querschnitt durch den unteren Teil des oberständigen Fruchtknotens von Monotropa zeigt ihn vierfächerig. Die Placenten sind stark angeschwollen und tragen an ihrer Oberfläche sehr zahlreiche, schmale, dicht aneinandergereihte Samenanlagen. Die beiden Placentenhälften in jedem Fach sind eine Strecke weit durch eine radiale Trennungslinie gesondert. In dem oberen Teil des Fruchtknotens reichen diese Trennungslinien bis zur Mitte und stoßen hier aufeinander. Wir sehen nun vier starke, der Mitte je einer Scheidewand aufsitzende Placentenpaare, die zwei benachbarten Fächern angehören; die Paare sind leicht mit den Nadeln voneinander zu trennen. Die Samenanlagen für die Untersuchung gewinnen wir, indem wir einen Teil der Fruchtknotenwand mit der Pinzette abheben und von einer nunmehr freigelegten Placenta die Samenanlagen mit der Nadel abstreifen. Wir bringen sie in reines Wasser oder 3-proz. Zuckerlösung, in der sich die Samenanlagen länger halten. Entnehmen

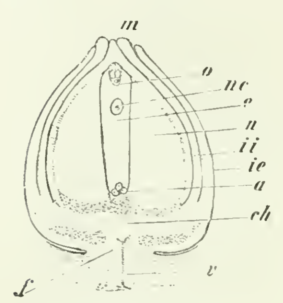


Fig. 237. Polygonum orientale, medianer Längsschnitt durch eine Samenanlage. Bedeutung der Buchstaben wie in der vorhergehenden Figur. Vergr. 53.

[1]) E. Strasburger, Befr. u. Zellt., 1877, S. 34 ff.; Neue Untersuchungen über den Befruchtungsvorgang b. d. Phanerogamen, 1884, S. 71; ferner Bot. Ztg., LVIII. Jahrg., 1900, 2. Abt., Sp. 298; K. Shibata, Flora, Bd. XC, 1902, S. 61.

[2]) E. Overton, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. VII, 1890, S. 9.

wir das genannte Material einer älteren Blüte, in der die Staubblätter bereits entleert sind, so finden wir z. T. reife, noch nicht befruchtete, z. T. bereits befruchtete Samenanlagen. Zwischen diesen treffen wir vielfach auf Pollenschlauchstücke. Die empfängnisreife Samenanlage hat das Aussehen der Figur 238 *A*. Sie ist durchscheinend und kann somit ohne weiteres untersucht werden. Ausgeprägt anatrop besitzt sie nur e i n Integument (*i*). Ihr ganzes Inneres wird vom Embryosack erfüllt; wir vermissen den Nucellus, der durch den wachsenden Embryosack zuvor schon verdrängt worden ist. Den Scheitel des Embryosacks nehmen, wie wir das jetzt deutlich feststellen können, 3 Zellen ein. Diese 3 Zellen bilden

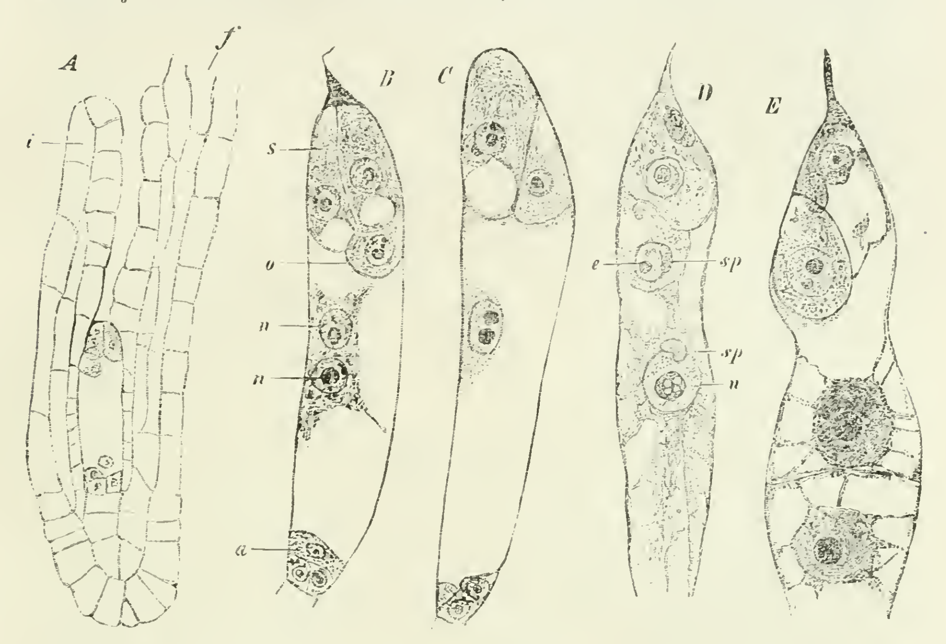


Fig. 238. Monotropa Hypopitys. *A* eine ganze Samenanlage, an dieser *f* der Funiculus, *i* das Integument; *B* und *C* Embryosäcke, und zwar in diesen *s* die Synergiden, *o* das Ei, *n* Polkerne bzw. sekundärer Embryosackkern, *a* Antipoden; *D* und *E* obere Teile des Embryosacks; in *D*: *e* Eikern, *n* sek. Embryosackkern, *sp* Spermakerne; in *E* die erste Teilung für Endospermbildung. *A* 240-, *B*—*E* 600 mal vergrößert.

den Eiapparat. Sie sind nicht gleichwertig. Die beiden oberen stellen die Gehilfinnen oder Synergiden (Fig. 238 *B*, *s*), die tiefer inserierte das Ei (*o*) vor. Die Synergiden bergen im unteren Teil eine Vakuole, sind höher hinauf mit Plasma erfüllt und enthalten dort auch den Zellkern. Das Ei führt umgekehrt die Vakuole oben, unten die Hauptmasse des Plasmas und den Zellkern. Nicht immer sieht man beide Synergiden; die eine kann die andere decken (Fig. 238 *C*). Im Grund des Embryosacks erkennt man meist unschwer die Gegenfüßlerinnen und findet auch sie in Dreizahl vertreten. Im Innern des Embryosacks findet man meist nur e i n e n Zellkern mit nur einem Kernkörperchen (Fig. 238 *A*), doch in anderen Fällen sind 2 Kerne (*B*) oder ein Kern mit 2 Kernkörperchen (*C*) vorhanden, und wir entnehmen hieraus, daß der schließlich nur in Einzahl vorhandene Kern aus der

Verschmelzung von zweien, den sog. Polkernen, hervorging. Man bezeichnet ihn daher als sekundären Embryosackkern. Samenanlagen, deren Befruchtung bereits begonnen hat, erkennen wir an dem veränderten Aussehen der Synergiden. Denn letztere erscheinen jetzt stark lichtbrechend, und zwar sind sie beide, oder nur eine von ihnen, in dieser Weise verändert. Dann ist auch sicher ein Pollenschlauch bis zum Embryosack vorgedrungen, und wenn es hier auch nicht leicht ist, ihn im Innern der Mikropyle zu sehen, so erkennt man doch unschwer sein zu der Mikropyle herausragendes, bei der Präparation abgerissenes Stück. Die Pollenschlauchspitze ist aber bis an die Synergiden vorgedrungen und ihre beiden generativen Kerne traten in den Embryosack ein. Bei sorgfältiger Untersuchung gelingt es, in Eiern, die an schon veränderte Synergiden grenzen, 2 Zellkerne zu finden (*D*), einen größeren, den ursprünglichen Eikern (*e*), daneben aber auch einen kleineren, den einen generativen Kern, „Spermakern" (*sp*). Letzterer nimmt an Größe zu und gleicht dann immer mehr dem Eikern. Man trifft verschiedene Verschmelzungszustände von Eikern und Spermakern an. Zugleich kann man, freilich nicht ganz leicht, feststellen, daß auch ein kleiner, dem Spermakern im Ei gleichender Kern (*D, sp*) sich dem sekundären Embryosackkern (*D, n*) anlegte. Es ist das der zweite generative Kern. Er verschmilzt mit dem sekundären Embryosackkern, der dadurch die Teilungsfähigkeit erlangt. Dieser Vorgang gleicht in seiner äußeren Erscheinung dem Befruchtungsvorgang im Ei, daher gab seine Entdeckung zu der Aufstellung einer „doppelten Befruchtung" bei den Angiospermen zunächst Veranlassung[1]). Während die Befruchtungsvorgänge sich im Ei abspielen, nimmt die stark lichtbrechende Substanz der Synergiden ab; sie dürfte für die Ernährung des Eies verbraucht werden. Zugleich mit diesen Veränderungen im Eiapparat hat in der Embryosackhöhlung die Bildung des Endosperms begonnen, d. h. wir sehen den Embryosack sich durch Wände teilen. Die Endospermbildung wird in diesem Fall durch sofortige Zellteilung eingeleitet, während in anderen ebenso häufigen, ja noch häufigeren Fällen der sekundäre Embryosackkern und dessen Nachkommen sich zunächst frei teilen und erst auf späteren Entwicklungsstufen Scheidewandbildung zwischen den Kernen erfolgt. Der Vorgang, wie er hier vorliegt, findet im allgemeinen in solchen Embryosäcken statt, die langsame und im ganzen nicht bedeutende Größenzunahme zeigen. Wo hingegen der Embryosack nach vollzogener Befruchtung sehr rasch wächst, da findet zunächst Kernteilung ohne Zellteilung statt, und die Zellbildung tritt erst ein, wenn der Embryosack annähernd ausgewachsen ist. — Die Endospermbildung eilt im allgemeinen, und so auch in diesem Fall, der Entwicklung des Eies voraus. Dieses hat infolge der Befruchtung eine zarte Zellulosemembran erhalten, beginnt sich dann schlauchförmig zu verlängern und dringt nach einiger Zeit mit seiner Spitze in den Endospermkörper ein, wo die Spitze des Schlauches einen wenigzelligen Embryo erzeugt. — Wir haben diese Samenanlagen bisher nur in reinem Wasser oder in Zuckerlösung untersucht; wollen wir die Kerne besonders hervortreten lassen, so behandeln wir die Präparate mit 2-proz. Essigsäure. Wir erhalten so in den meisten

[1]) S. Nawaschin, Sitzber. bot. Sekt. russ. Naturforschervers., Kiew, Aug. 1898.

Samenanlagen recht scharfe Bilder, und wir fixieren auch wohl Teilungszustände der Zellkerne, ohne uns aber für den Augenblick in diesen Vorgang vertiefen zu wollen. Färbende Medien sind wenig zu empfehlen, weil sie auch die Kerne im Integument färben und dadurch den Einblick in das Innere der Samenanlage stören.

Monotropa Hypopitys ist auch für das Studium der Entwicklungsgeschichte der Samenanlagen sehr geeignet[1]). Wir stellen uns die zu dieser Untersuchung notwendigen Präparate her, indem wir von dem fertigen Zustand nach rückwärts gehen und immer jüngere Blütenknospen vornehmen. Die Anfänge der Samenanlagen finden wir an Blütenschäften, die eben erst aus der Erde hervortreten. Diese jüngsten Zustände sind an zarten Querschnitten zu beobachten. Die Vorgänge, die sich im Innern des bereits angelegten Embryosacks abspielen, sieht man am besten an den in der früher schon erprobten Weise abgestreiften Samenknospen. Bei den Vorgängen im Innern des Embryosacks handelt es sich um das Sichtbarmachen der Zellkerne, wozu man wieder 2-proz. Essigsäure verwenden kann. — Als Resultat dieser Untersuchungen ergibt sich, daß sich die Samenanlage als Höcker aus der Placenta erhebt, und daß dieser Höcker von der einschichtig bleibenden Epidermis überzogen ist, während sein aus 2 Zellreihen aufgebauter Innenteil (Füllgewebe) einer hypodermalen Zelle den Ursprung verdankt. Die zunächst gerade Anlage beginnt sich zu krümmen, die oberste Zelle des Füllgewebes fängt an, sich besonders zu markieren. Ist die Krümmung der Anlage so weit gediehen, daß ihr oberer Teil annähernd rechtwinklig zu dem Fuß steht, so beginnt sich an der Krümmungsstelle das bereits durch hypodermale Teilungen angelegte Integument über die Außenfläche des Höckers zu erheben. Die hypodermale Endzelle des Füllgewebes bildet sich zur Embryosack-Mutterzelle aus, ähnlich wie wir die Initialen der Sporen und der Pollenkörner in hypodermalen Zellen fanden. Die Embryosack-Mutterzelle streckt sich, wobei der ganze Nucellus in gleicher Weise an Länge zunimmt. Er besteht aus der Embryosack-Mutterzelle und der sie umgebenden Epidermis. Die Embryosack-Mutterzelle teilt sich hierauf, und die beiden Schwesterzellen wiederholen die Teilung. Wir haben jetzt an Stelle der einen Zelle eine von vier Zellen gebildete Reihe. Die innerste dieser Zellen ist größer als die drei äußeren. Diese innerste wird zu dem der Makrospore entsprechenden Embryosack. Sie vergrößert sich, verdrängt die drei oberen, hierauf alsbald auch das ganze Nucellargewebe, und wird daher im fertigen Zustand unmittelbar von dem Integument umgeben. Mit den Vorgängen bei der Anlage der Sporen der Kryptogamen, ja selbst der Pollenkörner und des Embryosacks der Gymnospermen verglichen, hat der Vorgang der Embryosackbildung bei den Angiospermen eine weitgehende Reduktion erfahren. In den meisten Fällen wird hier, wie bei dem eben betrachteten Objekt, nur eine einzige Embryosack-, d. h. Makrosporen-Mutterzelle angelegt, und auch die Teilungen in dieser Mutterzelle können unterbleiben, so daß sie, wie beispielsweise bei Lilium, unmittelbar zum Embryosack wird[2]). — Bei seiner Anlage enthält der Embryosack von Monotropa, und

[1]) Vgl. E. Strasburger, Befr. u. Zellt., 1877, S. 33; Zellbildung u. Zellteilung, 3. Aufl., 1880, S. 101, und L. Koch, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XIII, 1882, S. 207.

[2]) Vgl. hierzu bes. L. Guignard, Ann. d. sc. nat., Bot., 7. sér., T. XIV, 1918, S. 181; ferner die Übersicht dieser Vorgänge in E. Strasburger, Biol. Zentralbl., Bd. XIV, 1894, S. 822, u. M. Koernicke, Sitzber. Niederrhein. Ges. f. Natur-Heilk., 1901, S. 14.

so auch anderer Angiospermen, nur einen Zellkern und stellt eine einfache Zelle vor. Dieser Kern teilt sich, und seine beiden Nachkommen gelangen an die beiden Enden der Zelle. Hier wiederholen sie 2mal die Teilung, so daß 4 Kerne im vorderen, 4 im hinteren Ende des Embryosacks liegen. Um je 3 Kerne vorn und hinten erfolgt Zellbildung durch Abgrenzung von Zytoplasma: daher entstehen 3 Zellen des Eiapparats und 3 Antipoden. Vorn und hinten im Embryosack verbleibt aber je ein vierter, freier Kern, und diese beiden Kerne, die Polkerne, findet man alsbald in verschiedenen Stadien der gegenseitigen Annäherung (Fig. 238 *B*), bis sie schließlich zu einem Kern, dem sekundären Embryosackkern, der zunächst zwei (Fig. 238 *C*), dann nur ein Kernkörperchen zeigt, verschmolzen sind.

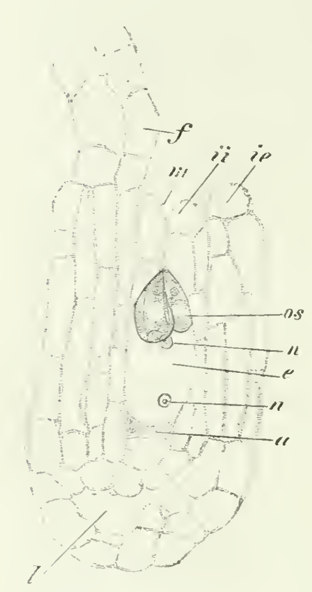


Fig. 239. Orchis pallens. Empfängnisreife Samenanlage. *f* Funiculus, *ie* äußeres, *ii* inneres Integument, *m* Mikropyle, *e* Embryosack, *os* Eiapparat, *n*, *n* Polkerne, *a* Antipodenreste, *l* Lufthöhle. Vergr. 240.

Statt Monotropa können Orchideen[1]) zur Beobachtung dienen, von denen meist verschiedene Arten auch zur Winterszeit in Gewächshäusern verfügbar sind. Zur Not kann man auch Alkohol-Material verwenden. Die Befruchtung findet bei ihnen geraume Zeit nach der Bestäubung im bereits stark angeschwollenen Fruchtknoten statt. Man schneidet solche Fruchtknoten auf, hebt Samenanlagen mit der Nadel von einer Placenta ab und überträgt sie in Wasser oder 3-proz. Zuckerlösung. Über den Bau der fertigen Samenanlage (Fig. 239) unterrichtet man sich leicht; er ist jenem von Monotropa sehr ähnlich, weist aber 2 Integumente (*ie*, *ii*) und eine Lufthöhle (*l*) in der Gegend der Chalaza auf. Die Luft dringt bis zwischen die Integumente vor und erschwert die Beobachtung. Die in Wasser oder in 3-proz. Zuckerlösung befindlichen Samenanlagen müßten somit unter der Luftpumpe von der Luft befreit werden. Meist genügt aber schon ein leichter Druck auf das Deckglas, um die besonders störende, zwischen den Integumenten befindliche Luft zu entfernen. Der Nucellus ist auch bei den Orchideen durch den Embryosack ganz verdrängt; als Rest des Nucellus ist öfters noch eine stark lichtbrechende Kappe am Scheitel des Embryosacks zu sehen. Der Eiapparat (*os*) zeigt hier den nämlichen Bau wie bei Monotropa, nur erscheint das Ei weniger tief inseriert. Die Gegenfüßlerinnen sind nicht zu sehen; an ihrer Stelle findet sich stark lichtbrechende Substanz (*a*), in der drei schwer nachweisbare Zellkerne liegen. Der Pollenschlauch ist leichter als bei Monotropa bis an die Synergiden zu verfolgen; diese erfahren nach der Befruchtung die nämlichen Veränderungen wie bei Monotropa. Die beiden verschmelzenden Geschlechtskerne im Ei sind unschwer zu erblicken, schwerer hingegen die Vereinigung des

[1]) E. Strasburger, Befr. u. Zellt., 1877, S. 55; Neue Unters. usw., 1884, S. 58; Bot. Ztg., LIX. Jahrg., 2. Abt., 1901, Sp. 353.

zweiten Spermakerns mit dem sekundären Embryosackkern festzustellen. Endosperm wird hier überhaupt nicht gebildet.

In Ermangelung von Monotropa und von Orchideen lassen sich von durchsichtigen Samenanlagen zur Untersuchung verschiedene Gesneriaceen[1]), so vor allem die großblütige Gloxinia hybrida unserer Gärten empfehlen. Die mit einem Integument versehene Samenanlage ist soweit durchscheinend, daß der Eiapparat deutlich gesehen werden kann. Er läßt die beiden Synergiden und das hier flaschenförmig gestaltete Ei erkennen. Der Embryosack zeigt eine Anschwellung in seinem oberen Teil und verengt sich dann plötzlich; Gegenfüßlerinnen vermag man in seinem Grund nicht mit Sicherheit zu unterscheiden.

Verhältnismäßig leicht gewinnt man auch einen Einblick in den Bau des Eiapparats auf Schnitten, die man durch den Fruchtknoten einer Lilium- oder Narcissus-Art führt. Da die Samenanlagen in den Fruchtknotenfächern dieser Pflanzen bei aufrecht gedachtem Fruchtknoten genau wagerecht gelagert sind, so erhält man gut orientierte Längsschnitte der Samenanlagen, indem man Querschnitte durch den Fruchtknoten ausführt. Mustert man in 5-proz. Zuckerlösung eine hinreichend große Zahl von Schnitten durch, so wird man sicher die gewünschten Bilder finden.

Ein eingehenderes Studium des Embryosackinhalts ist, wie bei den schon behandelten Objekten, auch hier nur an gefärbten Mikrotomschnitten aus geeignet fixiertem Material zu gewinnen. Die Schnittdicke muß sich nach der Größe der zu beobachtenden Teile, hier also nach der des umfangreichen Embryosacks, richten und wird je nach dessen Entwicklungszustand 8—32 μ betragen. Um beide Seiten des Präparats gleich gut beobachten zu können, klebt man zweckmäßig die Schnitte auf große Deckgläser auf und bedeckt sie nach ihrer Färbung und Einbettung in Kanadabalsam mit ebensolchen Deckgläsern[2]).

Das Vordringen des Pollenschlauches bis zum Ei läßt sich besonders leicht bei der Scrophulariacee Torenia asiatica verfolgen[3]). Sie wird überall in Gärten kultiviert und trägt das ganze Jahr über Blüten. Sie zeichnet sich dadurch aus, daß ihr Embryosack aus der Mikropyle der Samenanlage hervorwächst, den ganzen Eiapparat somit unmittelbar zeigt. Querschnitte durch den oberständigen, gestreckten Fruchtknoten führen uns 2 Fächer vor, in welche die beiden zentralen Placenten als Wülste vorspringen. Sie sind mit zahlreichen Samenanlagen bedeckt. Zum Zweck der Beobachtung entfernen wir eine Wand des Fruchtknotens und streifen die Samenanlagen von der Placenta ab. Wir untersuchen sie mit Vorteil in 3-proz. Zuckerwasser. Die Samenanlagen sind anatrop oder richtiger etwas kampylotrop, denn auch der Embryosack und das Integument sind in ihrem oberen Teil gekrümmt (Fig. 240 *A*). Der freie Teil des Funiculus (*f*) an der Samenanlage ist ziemlich lang. Nur ein kräftiges Integument ist vorhanden. Der Embryosack (*e*) sieht mit seinem oberen Ende aus der Mikropyle hervor. Dieser sein hervorgetretener Teil ist bauchig angeschwollen, vorn zugespitzt. Er

---

[1]) E. Strasburger, Befr. u. Zellt., 1877, S. 54; Neue Unters. usw., 1884, S. 75.
[2]) A. Ernst, Flora, Bd. XCI, 1902, S. 3.
[3]) E. Strasburger, Befr. u. Zellt., 1877, S. 52; Neue Unters. usw., 1884, S. 73.

legt sich dem Funiculus an. Den Embryosack im Innern der Samenanlage zu verfolgen, hält schwer, doch kann man sich nach Hinzufügen von etwas Kalilauge, während deren beginnender Einwirkung, überzeugen, daß er dem Integument unmittelbar anliegt, zunächst sehr schmal ist, dann etwas spindelförmig anschwillt (e^+) und sich an der Basis wieder verengt. Unsere Präparate in Zuckerwasser zeigen in dem freien Embryosackscheitel die beiden Synergiden und das Ei, also immer wieder die Dreizahl von Zellen im Eiapparat. Je nach

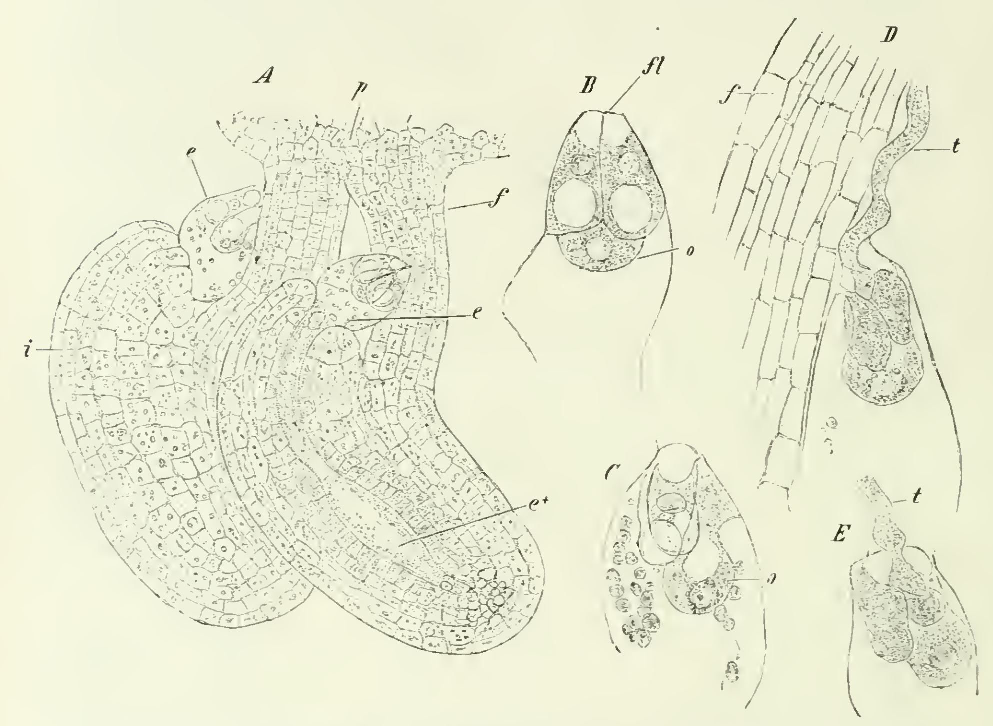


Fig. 240. Torenia asiatica. *A* zwei Samenanlagen an der Placenta (*p*), *e* der freie Embryosackscheitel, e^+ dessen im Innern der Samenanlage erweiterter Teil, *f* der Funiculus, *i* das Integument. Vergr. 240. *B* und *C* freier Embryosackscheitel reifer Samenanlagen, *fl* Fadenapparat, *o* das Ei. *D* und *E* Eindringen des Pollenschlauchs, *t* Pollenschlauch, *D* mit einem Teil des Funiculus *f*. *B*—*E* 600 mal vergr.

der Lage des Präparats sind beide Synergiden nebeneinander zu sehen (Fig. 240 *B*), oder die eine deckt die andere (*C*). Am Scheitel jeder Synergide fällt uns hier eine homogene, stark lichtbrechende, gegen den hinteren, feinkörnigen Teil scharf abgesetzte Kappe auf; es ist das der sog. Fadenapparat. Behandelt man ein solches Präparat mit Chlorzinkjodlösung, so sieht man die Synergiden-Kappen sich violett färben. Sie bestehen somit aus Zellulose. Die übrige Substanz der Synergiden und des Eies färbt sich gelbbraun. Sorgfältige Betrachtung lehrt, daß die Embryosack-Membran über den Synergiden-Kappen geöffnet ist (*B*, *C*). Die Synergiden-Kappen bilden jetzt somit den Verschluß. Sie sind, wie beiläufig bemerkt sei, namentlich bei monokotylen Pflanzen sehr verbreitet und wachsen dort oft auf weite

Strecken aus dem Embryosack hervor. Ihre sehr häufig zu beobachtende Längsstreifung rührt davon her, daß der Fadenapparat aus längsgestreckten Kammern aufgebaut ist, deren zarte, ursprünglich plasmatische Wände sich allmählich in Zellulose umwandelten[1]). Wir kehren zu unserem in Wasser oder Zuckerwasser liegenden Präparat zurück und stellen weiter fest, daß auch hier die Verteilung des Inhalts in den Synergiden und dem Ei ganz die nämliche wie bei Monotropa und Orchis ist (*B*, *C*). In den Synergiden liegen die Zellkerne in dem oberen, die Vakuole im unteren Teil; umgekehrt im Ei. — Wollen wir den Befruchtungsvorgang bei Torenia studieren, so müssen wir die Blüten zu diesem Zweck bestäuben. Von der Bestäubung bis zur Befruchtung vergehen etwa 36 Std., so daß wir erst nach 1½ bis 2 Tagen unsere Beobachtungen anstellen dürfen. Wir befreien dann wie vorhin die Samenanlagen von der Placenta, doch möglichst vorsichtig unter dem Präpariermikroskop, um auch möglichst große Partien von Pollenschläuchen abzuheben. Letztere sind hier mit größter Leichtigkeit bis an die Embryosackspitze und zwischen den Synergiden-Kappen bis an das Ei zu verfolgen (*D*, *E*). Man sieht, daß die von den Placenten geleiteten Pollenschläuche von den Funiculi weiter geführt werden, bis sie die Embryosackspitze erreichen. Von dieser aus macht sich gleichzeitig ein direkter Einfluß auf die Wachstumsrichtung der Pollenschlauchspitze geltend. Man kann annehmen, daß die Synergiden eine bestimmte Substanz ausscheiden, die chemotaktisch auf den Pollenschlauch einwirkt. Die Synergiden-Kappen dürften, ihrer weichen Beschaffenheit wegen, einer solchen Ausscheidung nur wenig Widerstand entgegensetzen. Wo aber die Synergiden-Kappen besonders stark entwickelt sind, da zeigen sie sich von kleinen, gegen die Oberfläche gestreckten Kammern durchsetzt. Die Synergiden werden bei Torenia, wie auch sonst, nach Zutritt des Pollenschlauches desorganisiert und bekommen das uns schon bekannte, stark lichtbrechende Aussehen. Für das Studium der weiter anschließenden Vorgänge ist das Objekt im frischen Zustand nicht günstig. Unsere Figur 240 zeigt nur das, was am frischen Objekt zu sehen ist, den in der Samenanlage eingeschlossenen Teil des Embryosackes sogar nach Kalibehandlung, wobei alle plasmatischen Strukturen verschwinden. Eingehende Untersuchungen, bei denen auch die Antipoden, die Polkerne, der aus ihnen hervorgehende, sekundäre Embryosackkern, endlich die Kopulation der Spermakerne mit dem Eikern und dem sekundären Embryosackkern zur Anschauung kämen, wären erst an entsprechend fixiertem, in Mikrotomschnitte zerlegtem und richtig gefärbtem Material zu gewinnen.

Nur mit solchen Hilfsmitteln wird man sich auch an die Untersuchung der Chalazogamie[2]) begeben können, die bei sehr verschiedenen Pflanzenfamilien vorkommt. Die Erscheinung der Chalazogamie beruht darauf, daß der Pollenschlauch auf einem anderen Weg als durch die Mikropyle in den Embryosack gelangt, um dort die Befruchtung zu vollziehen. Die von ihr betroffenen Pflanzen sind an den Samenanlagen

---

[1]) A. Habermann, Beih. z. bot. Zentralbl., Bd. XX, 1906, I. Abt., S. 300.

[2]) Die Literatur zur Chalazogamie s. bei R. v. Wettstein, Handb. d. syst. Bot., 2. Aufl., 1911, S. 452, 477 und bei G. Karsten in Fitting, Jost, Schenck, Karsten, Lehrbuch der Botanik, 15. Aufl., 1921, S. 666, 667 unter (8); s. dort auch S. 507 ff.

mit einer nunmehr überflüssig gewordenen Mikropyle versehen. Bei Alchimilla arvensis, die chalazogam befruchtet wird, ist diese Mikropyle zugewachsen, die Gruppe Eualchimilla der Gattung Alchimilla, die ebenfalls zugewachsene Mikropylen besitzt, weist Apogamie auf. Solche Apogamie ist bei den verschiedensten Angiospermen (s. S. 648) nachgewiesen worden.

Nachdem wir Androeceum und Gynaeceum nunmehr eingehend studiert haben, wollen wir an einem Beispiel die Entwicklungsgeschichte der ganzen Blüte verfolgen. Wir wählen als sehr geeignet hierzu eine Cruciferen-Blüte[1]) aus. Frisches Material steht hier fast das ganze Jahr zur Verfügung. Wir wollen uns im speziellen an den Raps, Brassica napus, halten. Die Betrachtung des fertigen Zustandes muß für alle Fälle der Entwicklungsgeschichte vorangehen. Der Blütenstand des Rapses ist eine Traube; da die obersten Internodien nur geringe Streckung erfahren, erhält die Spitze ein doldenähnliches Aussehen. Die Blüten sind langgestielt, ohne Deckblatt. Sie tragen vier schmale (lineale), grünliche Kelchblätter (Sepala), bestehend aus 2 Blattpaaren, von denen das äußere median, das innere lateral im Verhältnis zur Infloreszenzachse inseriert ist. Das innere wird in der Knospe von dem äußeren an seinen Rändern gedeckt, und hieran ist die gegenseitige Stellung beider zu erkennen (Fig. 241). Auf die 4 Kelchblätter folgen 4 gelbe Kronblätter (Petala), die mit den 4 Kelchblättern so alternieren, als wenn diese nur einen Wirtel bildeten. Die Kronblätter sind verkehrt eiförmig, gestielt, so daß sich ein „Nagel“ und eine „Platte“, d. h. Stiel und Spreite an ihnen unterscheiden läßt. Nach den 4 diagonal orientierten Kronblättern kommen 2 transversal gestellte, kürzere Staubblätter, sodann 4 längere, durch Spaltung aus je einer Anlage hervorgegangene, paarweise median gestellte. Beim Raps finden wir dann noch am Grund der Blüte bei den Ansatzstellen der Staubblätter 4 Nektarien ausgebildet, und zwar je ein breiteres an den der beiden kürzeren, nach innen zu liegend, ferner je ein spitzeres, zapfenförmiges zwischen den Ansatzstellen jedes der paarweise zusammenstehenden, längeren Staubblätter, etwas nach außen gerückt[2]). Den Schluß macht der schmale, von den Seiten her zusammengedrückte, sich allmählich in den Griffel verjüngende und mit schwach zweilappiger Narbe an seinem Scheitel endigende Stempel. Querschnitte durch den Fruchtknoten zeigen, daß er zweifächerig ist; doch müssen die Schnitte durch das untere Dritteil des Fruchtknotens geführt werden, um die Insertion einer Samenanlage zu treffen. Die Wandung, welche die Fruchtknotenhöhle median halbiert, ist eine falsche Scheidewand, und die Placentation ist wandständig in den Winkeln, welche diese Scheidewand mit der Außenwandung des Fruchtknotens bildet. Der Stempel besteht somit aus zwei lateral gestellten Fruchtblättern, die nur mit den Rändern verbunden sind und einen einfächerigen Fruchtknoten bilden würden, wenn nicht die falsche

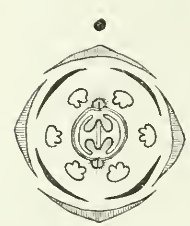


Fig. 241. Diagramm der Cruciferen-Blüte.

[1]) Vgl. A. W. EICHLER, Blütendiagramme, Bd. II, 1878, S. 200, dort die Literatur. S. a. A. GÜNTHART, Prinzipien der physikal.-kausalen Blütenbiologie in ihrer Anwendung auf Bau und Entstehung des Blütenapparates der Cruciferen, Jena 1910, und Derselbe, Beih. z. Bot. Zentralbl., 1. Abt., Bd. XXXV, 1918, S. 60 ff.

[2]) Über den Grundtypus der Cruciferennektarien vgl. J. H. SCHWEIDLER, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXVIII, 1912, S. 524 ff. S. a. A. GÜNTHART, Beitr. zu ein. blütenbiol. Monogr. d. Gattung Arabis, Bibliotheca Botanica, Heft 77, 1912, S. 6, 7.

Scheidewand vorhanden wäre, welche die beiden Fruchtblätter und deren dazu gehörige Placentenhälften voneinander trennt.

Um die Entwicklungsgeschichte zu gewinnen, nehmen wir den Gipfel einer jungen Traube und entfernen von ihr zunächst alle größeren Blütenknospen, bis auf solche, deren Höhe 1 mm nicht übersteigt. Unter dem Präpariermikroskop fahren wir mit der Operation an dem nicht benetzten Objekt fort, bis nur noch die innersten Blütenanlagen übrig bleiben. Wir stellen dabei den Spiegel ab und untersuchen bei auffallendem Licht. Dicht unterhalb der Blütenanlagen durchschneiden wir quer die Infloreszenzachse, worauf sich das Objekt senkrecht aufstellen läßt. Jetzt erst bringen wir einen Tropfen Wasser auf das Präparat, bedecken es mit Deckglas und entfernen unter der Luftpumpe die zwischen den Anlagen haftende Luft. Wir fügen zum Aufhellen ein wenig Kalilauge hinzu und können nunmehr in günstigen Fällen die wichtigsten Entwicklungsstadien auf einmal überschauen. — Die Blütenanlage erhebt sich als kegelförmiger, nackter Höcker aus der Infloreszenzachse, dicht unter deren Scheitel. Deckblattanlagen sind nicht zu sehen, wie denn die Cruciferen überhaupt durch den Mangel der Deckblätter in der Blütenregion ausgezeichnet sind. Erst wenn die nackte Anlage eine nicht unbedeutende Höhe erreicht hat, beginnt an ihr die Bildung der beiden ersten medianen Kelchblätter, von denen das äußere ein wenig zeitiger auftritt und auch gefördert wird; dann folgen rasch und völlig gleichzeitig die beiden lateralen Kelchblätter. Alle diese Kelchblätter werden in Gestalt breiter Wulste sichtbar, die gleich bei ihrer Entstehung so ziemlich den vierten Teil des Umfangs an der kegelförmigen Blütenanlage in Anspruch nehmen. Der Vegetationskegel der Anlage wölbt sich nun ein wenig vor, und es treten, mit den Kelchblättern alternierend, gleichzeitig die 4 Kronblätter in Gestalt von 4 Höckern auf, die dem Vegetationskegel eine viereckige Gestalt verleihen. Die Kelchblätter schließen hierauf bald mit ihren Spitzen über der Anlage zusammen, wobei das äußere über den Scheitel des inneren greift. Unterdessen zeigen sich die 2 Höcker für die beiden lateralen Staubblätter, dann entstehen median 2 Höcker, die sich alsbald spalten und zu den beiden inneren Staubblattpaaren heranwachsen[1]). — Während die Kronblätter an unserem Objekt eine sehr langsame Entwicklung zeigen, wachsen die Anlagen der Staubblätter rasch. Sie treten daher auch leicht in die Erscheinung, während die Kronblätter nur schwer zu erblicken sind. Die Kenntnis der Stellungsverhältnisse an der fertigen Blüte schützt uns vor Verwechslungen und erleichtert wesentlich die Orientierung. Nach Anlage der inneren Staubblätter fängt der Scheitel der Blütenknospe an, sich in Gestalt eines an zwei Stellen besonders hervorgewölbten, von den Seiten her etwas zusammengedrückten Kraters zu erheben, in dessen Grund somit der Vegetationspunkt nunmehr zu suchen ist. Dieser Krater nimmt nur langsam an Höhe zu, während die Staubblätter sich sehr rasch entwickeln und alsbald die größten Gebilde innerhalb der von den Kelchblättern umschlossenen Knospe darstellen. Die Kronblätter hingegen bleiben immer noch sehr klein und sind auch innerhalb der durchsichtig gemachten Knospen nicht sofort zu entdecken. Sie treten deutlicher und zwar als kleine, zungenförmige Lappen in Blüten hervor, die man vorsichtig unter dem Deckglas zerdrückt hat. Erst in Blütenknospen, die ohne Stiel über 1 mm Höhe erreicht haben, und in denen die Staubgefäße in allen Teilen

[1]) Vgl. Näheres bei A. W. Eichler, Flora, Bd. XLVIII, 1865, S. 505.

angelegt sind, beginnen die Kronblätter, und zwar dann ziemlich rasch, zu wachsen. Diese Verhältnisse, sowie das Schicksal der Fruchtknotenanlage, lassen sich aber nicht mehr an ganzen Blütenknospen, sondern nur auf Schnitten oder an freigelegten Knospenteilen verfolgen. Längsschnitte stellen wir zwischen den Fingern durch den Scheitel der ganzen Infloreszenz her. Um die Teile zu isolieren, zerlegen wir die Blütenknospen mit Nadeln unter dem Präpariermikroskop. Die Schnitte, wie die freigelegten Teile, lassen sich vorteilhaft mit Kalilauge behandeln. So stellt man fest, daß die tief zweilippige Anlage des Fruchtknotens, nachdem sie eine bestimmte Höhe erreicht hat, sich oben zusammenzuschließen beginnt; daß zugleich von einer im Innern entstehenden, der Länge nach von der einen Wand über den Achsenscheitel zur gegenüberliegenden ununterbrochen hinlaufenden Gewebeleiste aus, deren Ränder im Lauf der Entwicklung nach innen aufeinander zuwachsen und schließlich miteinander verschmelzen, die falsche, die Fruchtknotenhöhle halbierende Scheidewand gebildet wird[1]); daß endlich aus den Winkeln zu beiden Seiten dieser Scheidewand je 3 Samenanlagen hervorsprossen. In den Winkeln an der Scheidewand befinden sich somit die Placenten. Die Samenanlagen sind zunächst kegelförmig und nicht gekrümmt; sie legen unterhalb ihres Scheitels, als einen ringförmigen Wulst, das innere Integument an; hierauf beginnen sie sich zu krümmen, während zugleich an ihrer Rückenfläche, dicht unterhalb des ersten, ein zweiter Wulst sich erhebt. Dieser nimmt an Mächtigkeit zu; dabei krümmt sich die Samenanlage immer mehr. Die an ihrem oberen Rand wachsenden Integumente erreichen den Scheitel des schmalen Nucellus und schließen über ihm bis auf einen engen Spalt, die Mikropyle, zusammen. Zuerst ist der Verschluß durch das innere, dann durch das äußere Integument vollzogen. Das innere Integument ist gleichmäßig um den ganzen Nucellus, das äußere nur an dessen freier Außenfläche entwickelt. Der Nucellus selbst zeigt sich in demselben Sinn wie die ganze Samenanlage gekrümmt. Die Samenanlage ist kampylotrop. In über 1 mm hohen Blütenknospen haben die Samenanlagen ihre Entwicklung annähernd vollendet; an der Spitze des Griffels hat bereits die Ausbildung der Narbenpapillen begonnen. Diese Narben, die aus dem Placentaleistengewebe hervorgegangen sind, stehen kommissural, d. h. sie entsprechen in ihrer Stellung den verwachsenen Rändern (Kommissuren) der Fruchtblätter.

Unsere Figur 241 stellt ein Diagramm der Cruciferen-Blüte dar. Um günstige Querschnitte durch Blüten zu erhalten, in denen die einzelnen Teile genau ihre Lage zeigen, wird man die Blüten, etwa in Alkohol, fixieren und nach Einbettung in Paraffin in Mikrotomschnitt-Serien zerlegen. Auch für entwicklungsgeschichtliche Untersuchung der Blüten werden entsprechende Schnittserien oft gute Dienste leisten.

---

[1]) E. Hannig, Bot. Ztg., LIX. Jahrg., 1. Abt., 1901, S. 207.

XXX. Abschnitt.

Bau des Samens der Angiospermen. Samenschale. Keim. Keimentwicklung.

Entwicklungsgeschichte der Samenschale. Entstehung der Schleimschichten. Zellfolge in der Keimanlage. Entwicklung der Fruchtwandung. Keimung. Reduzierte Keime. Polyembryonie. Adventivkeime. Apogamie. Parthenogenesis.

Untersuchungsmaterial.

Capsella Bursa pastoris, fruchtend, frisch oder in Alkohol. Alisma Plantago, fruchtend, frisch oder in Alkohol. Triticum vulgare, alle Entwicklungszustände der Fruchtanlage und reifen Frucht. Orchis pallens, Gymnadenia conopea, Epipactis palustris, oder eine andere Orchidee, fortgeschrittene Fruchtanlagen. Monotropa, ältere Fruchtanlagen. Funkia ovata, Fruchtanlagen. Nothoscordon fragrans, Fruchtanlagen. Alle diese Objekte frisch oder in Alkohol.

Wichtigste Einschlußmedien und Reagentien.

Glyzerin. — Gummilösung. — Kalilauge. — Karbolsäure.

Wir wollen es nunmehr versuchen, uns mit dem Bau eines reifen Samenkorns der Angiospermen bekannt zu machen, und dem Keim, den es einschließt, unsere Aufmerksamkeit zuwenden. Wir wählen als relativ günstiges Objekt eine Crucifere aus, das Hirtentäschel, Capsella Bursa pastoris, eine Pflanze, die mit Vorliebe für embryologische Studien benutzt worden ist[1]). Ihr Same ist relativ sehr klein, doch dieses gerade gewährt Vorteile bei der entwicklungsgeschichtlichen Untersuchung. Wir wollen daher auch die Schwierigkeiten zu überwinden suchen, die das Schneiden des fertigen Samens in diesem Fall mit sich bringt. Durch diesen ist nämlich vor allem ein medianer Längsschnitt herzustellen. Dieser Schnitt läßt sich aus frischem Material nicht allzu schwer zwischen den Fingern ausführen. Noch leichter gelingt er, wenn man den Samen zwischen zwei flache Korkstückchen legt und das Messer zwischen diesen hindurchzieht. Auch kann man ein Samenkorn mit etwas Gummilösung zwischen 2 Stücke weichen Linden- oder Pappelholzes in erwünschter Lage festkleben und nach dem Trockenwerden die Schnitte durch Holz

[1]) Vgl. J. HANSTEIN, Bot. Abhandl., Bd. I, H. 1, 1870, S. 5; M. WESTERMAIER, Flora, Bd. LIX, 1876, S. 483; A. FAMINTZIN, Mém. de l'Acad. imp. d. sc. d. St. Pétersb., 7. sér., T. XXII, Nr. 10, 1876; L. KNY, Bot. Wandtafeln, H. 1, 1874, S. 20. Eine Zusammenstellung aller embryologischen Arbeiten bei K. GOEBEL, Vergl. Entwicklungsgeschichte, in SCHENKS Handb. d. Bot., Bd. III, 1884, S. 165 ff.; s. a. L. GUIGNARD, Journ. de Bot., Bd. VII, 1893, S. 9; J. D'ARBAUMONT, Ann. des sc. nat. Bot., 7. sér., Bd. XI, 1890, S. 129; E. STRASBURGER, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXI, 1898, S. 539; A. OLIVA, Zeitschr. d. österr. Apothekervereins, Jahrg. XLIII, Wien, 1905, S. 1001 ff.

und Samen zugleich führen. Es läßt sich der Samen endlich auch in einen Gummitropfen, dem etwas Glyzerin zugesetzt ist, auf dem Ende einer Holundermarkstange einbetten und nach dem Austrocknen zugleich mit dem Gummi schneiden.

Die Schnitte, ob in dieser oder jener Weise hergestellt, sind in Glyzerin zu untersuchen, da in Wasser der Keim quillt und aus der Samenschale heraustritt. Der Keim (Fig. 242 *A*) erfüllt das ganze Samenkorn; er ist in halber Länge umgebogen, so daß die Keimblätter (*c*) dem hypokotylen Glied oder Hypokotyl (*h*) anliegen. Diese Art der Umbiegung ist für die Notorhizae unter den Cruciferen charakteristisch und wird durch das Zeichen 0|| ausgedrückt. Ist der Schnitt zart und hat er das Samenkorn rein median getroffen (wie in *A*), so sieht man am Grund zwischen den Keimblättern den kleinen Vegetationskegel des Stämmchens und kann auch am Radikularende des Hypokotyls den nur wenige Zellschichten starken Abschluß durch eine Wurzelhaube unterscheiden. Das Endosperm ist in diesem Samen nur durch eine einschichtige Lage aleuronhaltiger Zellen vertreten. Die Körnchen, die sie führt, färben sich mit Jodlösung gelbbraun und verraten so ihre Natur. Die Aleuronschicht umgibt unmittelbar den Keim; sie wird ihrerseits von der Samenschale, der Testa, umschlossen. Nehmen wir eine stärkere Vergrößerung zu Hilfe, so können wir feststellen, daß diese Samenschale (Fig. 242 *B*) aus 3 Zellschichten besteht: einer innersten, membranartigen Schicht (*), die dem zerdrückten, inneren Integument ihre Entstehung verdankt; einer zweiten Schicht (*c*), deren Zellwände gelb gefärbt und nach der Innenseite zu sehr stark verdickt sich zeigen; einer äußersten Zellschicht (*e*), die in konz. Glyzerin als farblose, scheinbar homogene Haut erscheint, weil ihre Zellen stark abgeflacht und bis zum Schwinden des Lumens verdickt sind. Betrachten wir die Schale von außen, so erkennen wir leicht die Umrisse der polygonalen Zellen der äußeren, tafelförmigen Schicht. Diese Zellen sind in ihrem nach innen gekehrten Teil stellenweise durch lufterfüllte Interzellularräume getrennt. In der Mitte jeder Zelle ist ein schwach sich zeichnender, stärker das Licht brechender Teil zu sehen. Die Wände der nächstinneren Zellschicht sind braun, stark verdickt, die Zellen selbst nur wenig kleiner als in der Außenschicht. Bedeutend kleiner hingegen und schwach verdickt sind die Zellen der klebermehlhaltigen Endospermschicht (*a*). — Lassen wir nunmehr zu den Schnitten vom Deckglasrand aus Wasser zutreten, so beginnen die Zellen der Außenschicht rasch zu wachsen; jede von ihnen wölbt sich stark nach außen vor, in ihrer Mitte wird

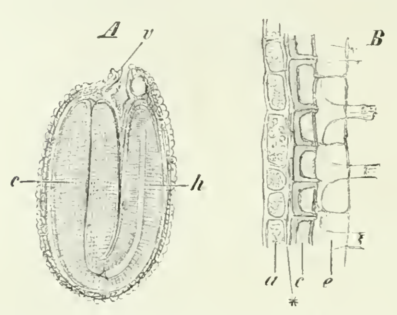


Fig. 242. Capsella Bursa pastoris. *A* Längsschnitt durch den reifen Samen. *h* hypokotyles Glied; *c* Keimblätter; *v* Leitbündel des Funiculus. Vergr. 26. *B* Teil eines Längsschnittes durch die Samenschale und die Aleuronschicht nach Einwirkung von Wasser. *e* die gequollene Epidermis; *c* die gelbgefärbte, stark verdickte Schicht; * die zerdrückten Zellschichten; *a* die Aleuronschicht. Vergr. 240.

eine stark lichtbrechende Säule bemerkbar. Ein Lumen ist auch jetzt nicht zu unterscheiden; die ganze Zelle scheint von Verdickungsschichten der Wand erfüllt zu sein, und zwar sind die äußeren Verdickungsschichten schwach, die innersten stark lichtbrechend. Diese innersten Verdickungsschichten bilden die auffällige, zentrale Columella, die alsdann auch in der Oberflächenansicht sehr stark hervortritt, während gleichzeitig die zwischen den Zellen befindlichen Interzellularräume schwinden. Die quellenden Wände lassen meist deutliche Schichtung erkennen. Bei weiterem Zutritt von Wasser wird die Kutikula gesprengt, die äußeren Verdickungsschichten treten hervor und verteilen sich in dem umgebenden Wasser als unsichtbarer Schleim. Die lichtbrechende Columella bleibt zurück, die Mitte jeder Zelle bezeichnend (Fig. 242 *B* bei *e*). Sie hat nicht unbeträchtlich an Größe zugenommen; an ihrem Scheitel sieht man Reste der aufgelösten Verdickungsschichten. Ebenso bleiben von den Zellen die seitlichen Mittellamellen stehen und zeigen, da sie nicht quellen, jetzt viel geringere Höhe als die Säulchen. Dies alles ist an unserer Figur 242 *B* zu sehen, welche uns die Testa nach Einwirkung des Wassers vorführt. Um diese Quellungserscheinungen zu beobachten, können wir auch die Schnitte zunächst in Alkohol untersuchen und hierauf Wasser hinzutreten lassen. — Eine solche Verschleimung von Verdickungsschichten an den äußeren Zellen von Samen und Teilfrüchten ist eine relativ häufige Erscheinung, die ein wirksames Befestigungsmittel für sie im Boden abgibt. — Da das Schneiden des reifen Samens einige Schwierigkeit bereitet, so können wir, soweit wir uns nur über die Lage und den Bau des Embryos orientieren wollen, die Schnitte durch nicht ganz reife, viel weichere Samen führen und nur die Samenschale an völlig reifen Samen untersuchen. — Hiernach gehen wir auf jüngere Zustände zurück und legen dann zunächst die ganzen Samenanlagen in Kalilauge. Diese Samenanlagen gewinnen wir aber am besten, indem wir das Schötchen der ganzen Länge nach halbieren und sie dann aus jeder Hälfte mit dem Skalpell herausholen. Sie lassen sich fast bis zum Zustand völliger Reife soweit durchsichtig machen, daß man sich über die Lage der Embryonen gut orientieren kann. Der Embryo wird in Kalilauge schön grün, was daher rührt, daß die Stärkekörner quellen und die Chlorophyllkörner sichtbar werden. Wir sehen, indem wir immer jüngere Samenanlagen vornehmen, daß der Embryo (und zwar zunächst vornehmlich dessen Keimblätter) immer kürzer wird. Er reicht nicht in die untere, aufwärts umgebogene Hälfte der Embryosackhöhle hinein. Samenanlagen aus Früchten, die ohne Stiel etwa 5 mm Höhe messen, zeigen den Embryo als einen kleinen Körper von herzförmiger Gestalt. Die beiden auseinanderspreizenden vorderen Höcker sind die Anlagen der Keimblätter. — Indem wir die eben geschilderten Entwicklungsstadien des Keims verfolgen, stellen wir gleichzeitig fest, daß ein Endosperm nur an den beiden Enden des Embryosacks gebildet wird und vornehmlich am Chalaza-Ende als kleiner, grün gefärbter Gewebekörper auffällt. Dieses Endosperm wird von dem heranwachsenden Keim verdrängt und resorbiert, ausgenommen die äußerste, durch ihren Gehalt an Klebermehl ausgezeichnete Schicht. Weiter stellen wir fest, daß die Testa aus den beiden Zellschichten des äußeren

Integuments hervorgeht, während die Zellen des inneren Integuments gedehnt und allmählich zerdrückt werden. — Um uns über den Bau des Eiapparats in der Samenknospe zur Empfängniszeit zu orientieren, müssen wir uns an Alkoholmaterial wenden, das wir durch vorsichtigen Zusatz von Kalilauge bis auf den gewünschten Grad durchsichtig machen. Wir stellen so die Existenz von 2 Gehilfinnen und einem Ei im Eiapparat fest, während die Gegenfüßlerinnen schwer zu sehen sind. Wir finden weiter, daß das befruchtete Ei zu einem etwa 6 Zellen langen Vorkeimfaden auswächst, dessen oberste, d. h. von der Mikropyle entfernteste Zelle sich hierauf zum Embryokügelchen abrundet, während die untere Zelle des Embryoträgers oder Suspensors, die Anheftungszelle, zu gleicher Zeit anschwillt, das ganze Nuzellargewebe des Scheitels bis auf das Integument verdrängt und die Blase bildet, die wir auch noch im fertigen Zustand an dieser Stelle finden. Diese angeschwollene Zelle dürfte die Nahrungsaufnahme für den Embryo vermitteln. Das Embryokügelchen wird durch eine Scheidewand von dem Suspensor abgegrenzt und alsbald durch eine Längswand geteilt. In jeder der so entstandenen beiden halbkugelförmigen Zellen wird weiterhin zunächst eine rechtwinklig zur ersten orientierten Längswand angelegt, worauf die jetzt in Vierzahl vorhandenen Zellen durch je eine in halber Höhe angelegte Querwand geteilt werden. So erscheint das Embryokügelchen in Oktanten zerlegt, in denen perikline und antikline Wände weiterhin abwechseln. Das Embryokügelchen nimmt an Größe und Zellenzahl zu, flacht sich etwas ab, worauf aus seinem vorderen Ende die Keimblätter hervorsprossen. Diese stoßen zunächst an ihrer Basis scharf zusammen, und erst nachträglich wölbt sich zwischen ihnen der Vegetationskegel des Stämmchens hervor.

Die Entwicklung der Schleimschichten der Samenschale können wir nur an fixiertem Material verfolgen. Wir benutzen Alkohol-Material. Die jungen Epidermiszellen der Samenanlage sehen wir zunächst sich mit Stärke füllen; ihr Kern nimmt Stellung an der äußeren Wand, wo sich auch die Stärke um ihn sammelt. Durch diese wird er verdeckt; doch kann man das Verschwinden eines Teils der Stärke veranlassen, wenn man die jungen zu untersuchenden Fruchtstände abschneidet und einige Tage im Zimmer im Wasserglas stehen läßt. Da verbrauchen sie einen Teil ihrer Stärke, und demgemäß werden auch die Epidermiszellen ihrer Samenanlagen durchscheinender. Bald beginnt an der Außenwand eine ringförmige Verdickung. Die gebildeten Verdickungsschichten dringen immer tiefer in das Zellumen vor. Die Stelle, an welcher der Zellkern der Außenwand anliegt, bleibt von der Verdickung zunächst ausgeschlossen, und ein kegelförmiger, mit körnigem Plasma und Stärke erfüllter Zellraum führt so von der Basis gegen den Scheitel der Zelle. Schließlich wird er aber durch Bildung starker, lichtbrechender Membranschichten verengt und fast zum Schwinden gebracht. Diese zuletzt entstandenen Schichten sind resistenter und stellen die Columella dar. — Chlorzinkjodlösung färbt den heraustretenden Schleim violett, und zwar in den äußeren Teilen schwach, doch mit zunehmender Intensität nach der Columella zu, besonders schön wird der Schleim durch Methylenblau gefärbt. Er ist demnach anscheinend einer jener Schleime, die ein Gemisch von Zellulose- und Pektinschleim darstellen (s. S. 173 ff.).

Wollen wir eingehende embryologische Studien anstellen, so müssen wir die Embryonalanlagen isolieren, was hier sehr leicht gelingt. Wir bringen

zu diesem Zweck die entsprechend großen Samenanlagen in verd. Kalilauge, öffnen sie an dem Mikropylende und drücken mit der Nadel oder dem Deckglas ein wenig auf den Körper der Samenanlage, wobei der junge Embryo, mit oder ohne Suspensor, meist unversehrt hervortritt. Durch Zusatz von Wasser, oder nach dem Auswaschen in Wasser, erst durch Zusatz von ein wenig Essigsäure, erreicht der Keim den gewünschten Grad von Durchsichtigkeit; durch Zusatz von Glyzerin, das mit Wasser oder mit Wasser und Alkohol verdünnt ist, wird er zur dauernden Aufbewahrung geeignet. Ältere Keime müssen längere Zeit mit Kalilauge behandelt, hierauf mit Essigsäure oder Salzsäure ausgewaschen und schließlich noch mit Ammoniak neutralisiert werden, worauf sie sich ebenfalls in verd. Glyzerin aufbewahren lassen[1]). Selbst getrocknete Pflanzen sind für die Untersuchung zu verwerten. Man behandelt zu diesem Zweck die Früchte einige Min. mit konz. Kalilauge, legt hierauf die Samenanlagen frei und schneidet sie mit dem Skalpell auf dem Objektträger, ohne Zusatz von Flüssigkeit, quer durch, etwa in halber Länge. Wird nun etwas Aq. dest. hinzugefügt, das Deckglas aufgelegt und ein wenig darauf gedrückt, so kommt die Embryoanlage, falls sie nicht zuvor schon von selbst hervortrat, aus der Samenanlage heraus. Wird nun zum zweitenmal Kalilauge zugesetzt, so erhält das Präparat meist die nötige Durchsichtigkeit und Schärfe[2]). Das Embryokügelchen muß gedreht werden können, was durch Verrücken des Deckglases geschieht. Mit Vorteil werden in den Flüssigkeitstropfen vor Auflegen des Deckglases passend dicke Roßhaarstückchen als Walzen gelegt. Da der Suspensor an sehr jungen Anlagen das Aufstellen in Scheitelansicht erschwert, so ist es vorteilhaft, den Suspensor mit scharfem Skalpell am Embryokügelchen abzuschneiden. — Die eingehende Untersuchung zeigt uns, daß das Embryokügelchen zuerst durch eine Längswand in 2 Hälften, dann jede Hälfte nochmals durch je eine Längswand in Quadranten zerlegt wird. Hierauf folgen in allen 4 Zellen in halber Höhe Querwände und hiermit Oktanten-Bildung. In allen 8 Zellen treten jetzt perikline Wände auf, so daß 8 äußere Zellen, „Hautzellen“, von 8 inneren Zellen, „Binnenzellen“, getrennt werden. Hierauf werden die Hautzellen zuerst durch Längs-, dann durch Querwände und auch weiterhin in gleicher Abwechslung geteilt. In den Binnenzellen sehen wir ebenfalls zunächst Längswände, dann Querwände auftreten, wobei es immer schwerer wird, die einzelnen Teilungschritte zu verfolgen. In optischen Durchschnittsansichten des bereits vielzelligen Embryokügelchens ist zu bemerken, daß die unterste der inzwischen stark vermehrten Zellen des Suspensors in dieses Kügelchen vorspringt, dort aufgenommen wird und es vervollständigt. Aus ihr geht die sog. Hypophyse des Keimlings oder der „Keimanschluß“ hervor. Sie teilt sich zunächst durch eine Querwand; dann findet in der einen oder den beiden so entstandenen Tochterzellen Teilung durch Längswände statt. Bald darauf beginnen sich aus der vorderen Fläche der Kugel an zwei gegenüberliegenden Seiten die Keimblätter zu erheben; die ganze Kugel flacht sich zugleich ab. Hat der Keim weiter an Größe zugenommen, so wird im optischen Schnitt eine Sonderung seines Gewebes derart sichtbar, daß sich die in der Längsachse liegenden, gestreckten Zellen als Plerom, die sie umgebenden als Periblem unterscheiden lassen, letzteres aber von

[1]) Vgl. J. HANSTEIN, Die Scheitelgruppe im Vegetationspunkt der Phanerogamen, 1868, S. 3, und Bot. Abhandl., Bd. I, H. I, 1870, S. 5, Anm.
[2]) M. WESTERMAIER, l. c., 1876, S. 490.

dem Dermatogen umgeben ist, das aus den durch die erste perikline Teilung gebildeten Hautzellen hervorging. Die untere Zellgruppe, die den Keimling gegen den Suspensor abzuschließen hat, geht aus der Hypopyhse hervor. Diese ist dreischichtig geworden. Die beiden äußeren Schichten bilden die „Schlußzellen" für das Dermatogen, die inneren für das Plerom. In unmittelbarer Umgebung der Hypophyse haben sich die Dermatogenzellen durch je eine perikline Wand verdoppelt, und so ist eine Doppelkappe entstanden, welche die Keimlingsbasis umgibt und z. T. der Hypophyse, z. T. dem angrenzenden Dermatogen ihren Ursprung verdankt. Die äußere Schicht dieser Kappe enthält die Mutterzellen der Wurzelhaube, während die innere Schicht den Dermatogenanschluß vermittelt. Hiermit ist die erste Gewebesonderung am Keim vollendet, und weiterhin folgt nur noch fortschreitende Differenzierung und Ausbildung des Vorhandenen, die mit Zellteilung und Zellstreckung verbunden ist. Wie der mediane Längsschnitt durch den älteren Keim lehrt, sind vornehmlich auch die Wurzelkappen an dessen Basis vermehrt worden; es sind das 3—4 nach innen zu an Ausdehnung verlierende Zellschichten, die nacheinander aus den Zellen des Dermatogenanschlusses gebildet, in das einschichtige Dermatogen seitlich übergehen. Der Vegetationskegel des Stammes erhebt sich erst spät als kleiner, unscheinbarer Höcker zwischen den Kotyledonen.

Für das Studium des monokotylen Keims wählen wir den gemeinen Froschlöffel, Alisma Plantago[1]). Auch dieses Objekt ist für die Untersuchung sehr geeignet. Wir wollen uns hier nur mit dem fertigen Zustand bekannt machen. Die Blüte von Alisma Plantago enthält zahlreiche monomere Fruchtknoten; sie ist polykarpisch. Aus jeder Blüte gehen eben zahlreiche Einzelfrüchte hervor, die, dicht aneinandergedrängt, eine Sammelfrucht (Syncarpium) von dreieckigem Grundriß bilden. Jedes einzelne Früchtchen ist stark abgeflacht, nach oben zu etwas dicker, verkehrt eiförmig im Profil, mit einer medianen Rückenfurche An der nach dem gemeinsamen Mittelpunkt der Sammelfrucht zugekehrten Bauchkante ist in halber Höhe ein kurzer, fadenförmiger Fortsatz zu sehen, der den verdorrten Griffel darstellt. Wir wählen eine fast reife Sammelfrucht für die weitere Untersuchung, bringen eine einzelne Frucht zwischen die beiden Hälften eines halbierten Korkstopfens und ziehen das Messer zwischen diesen beiden Hälften durch. Ohne Mühe gelingt es uns so, passende mediane Längsschnitte zu erhalten, während das Schneiden zwischen den Fingern Schwierigkeiten bereitet. da die Fruchtschale zu hart ist. Gleichzeitig stellen wir uns in gewohnter Weise zwischen 2 Korkstückchen einige Querschnitte her. Die Längsschnitte untersuchen wir in Wasser, dem wir etwas Kalilauge zufügen. Für die Querschnitte genügt reines Wasser. Das Austreiben der Luft. das für das Studium der Fruchtschale auf Längsschnitten vorgenommen werden muß, besorgen wir durch kurzes Versenken des Schnittes in Alkohol oder mit Hilfe der Luftpumpe. Einzelne Längsschnitte legen wir auch in Karbolsäure ein und bekommen auf diese Weise Bilder, die in vorteilhafter Weise die übrigen ergänzen. — Der Längsschnitt, wenn richtig geführt, sieht wie Figur 243 aus. Wir haben da zunächst die relativ dicke Fruchtwand, das Perikarp, vor Augen, das an seiner Ober-

[1]) J. Hanstein, Bot. Abhandl., Bd. I, 1870, S. 33; A. Famintzin, l. c., 1876, S. 4; L. Kny, Bot. Wandtafeln, H. VII, 1886, S. 267.

fläche von der Epidermis (*ep*) überzogen wird. Letztere stellt, wie unser medianer Längsschnitt lehrt, einen ziemlich scharf abgesetzten Teil des Perikarps vor, und läßt sich daher als Epikarp bezeichnen. Auf die Epidermis folgt parenchymatisches Gewebe aus annähernd isodiametrischen, mäßig verdickten, lückenlos verbundenen, mit Luft erfüllten Zellen: es bildet das Mesokarp (*m*). Nach innen folgen mehrere Schichten gestreckter, sklerenchymatischer Elemente: das Endokarp (*en*). Ein genau medianer Längsschnitt trifft im Rücken der Fruchtschale einen an die Epidermis anlehnenden Schleimgang, der freilich nur in der unreifen Fruchtschale gut zu sehen ist, in der reifen hingegen fast inhaltsleer erscheint und sich kaum von dem benachbarten Gewebe unterscheiden läßt. Nicht genau mediane Längsschnitte können hingegen ein Leitbündel (*v*) bloßlegen, das, an das sklerenchymatische Endokarp anlehnend, im Rücken der Frucht aufsteigt, um erst an der Bauchkante, und zwar in deren unterer Hälfte, zu enden (bei *v**). Unter der Insertionsstelle des verdorrten Griffels (*st*) springt die Bauchkante der Fruchtwand vor und wird hier aus langgestreckten Zellen gebildet. Nach innen, an diese grenzend, sieht man in günstigsten Fällen einen mit Luft erfüllten Gang (*t*), der an den Staubweg des Griffels anschließt und sich bis an die Basis der Fruchthöhlung verfolgen läßt. Es ist das der Weg, auf dem die Pollenschläuche zur Mikropyle der Samenanlage gelangten. Da letztere nach der Rückenkante des Fruchtknotens schaut, so mußten diese Pollenschläuche nach Eintritt in die Fruchtknotenhöhle den Funiculus der Samenanlage umwachsen. — Epi-, Meso- und Endokarp sind an Querschnitten noch leichter als im Längsschnitt zu unterscheiden, und die Furche in der Mediane des Rückens tritt jetzt in besonders auffälliger Weise hervor. Der Samen erfüllt, wie der mediane Längsschnitt durch die Frucht zeigt, fast vollständig die Fruchtknotenhöhle und ist an einem ziemlich langen, gekrümmten Funiculus (*f*) in zentraler Lage im Grund der Fruchtknotenhöhle befestigt. Ein Leitbündel (*fv*) tritt in diesen Funiculus ein. Der Samen ist kampylotrop und seinerseits vom Embryo vollständig ausgefüllt. Als Testa (*ts*) ist nur eine dünne Haut vorhanden, die aus zwei deutlich unterscheidbaren Zellschichten besteht. Zwischen beiden sieht man

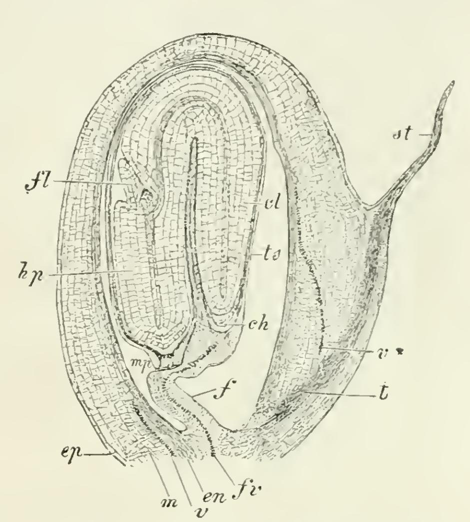


Fig. 243. Alisma Plantago. Medianer Längsschnitt durch eine reife Frucht. *ep* Epikarp (Epidermis); *m* Mesokarp; *en* Endokarp der Fruchtwand (Perikarp); *v* ein Leitbündel in ihr; *v** das Ende des Leitbündels; *st* der abgestorbene Griffel; *t* der Staubweg; *f* Funiculus des Samens mit dem Leitbündel *fv*; bei *mp* Mikropyle; *ch* Chalaza; *ts* die Samenschale (testa); *hp* hypokotyles Glied des Keims; *fl* erstes Blatt; *cl* Keimblatt. Vergr. 28.

stellenweise noch eine dritte, zerquetschte Zellage, die nach erfolgter Quellung in Kalilauge deutlicher hervortritt. Die innere Zellschicht der Testa ist an ihrer Innenseite stark verdickt. Die Mikropyle (*mp*) springt am Samen scharf vor. Das Wurzelende des Keims liegt ihr nach innen unmittelbar an. Dieses Wurzelende ist etwas angeschwollen und wölbt sich in der Mitte warzenförmig vor. Hat der Schnitt den Keim genau median getroffen, so sieht man, daß der warzenförmige Vorsprung von 2 Wurzelkappen gebildet wird, die an ihren Rändern in die Epidermis übergehen. In halber Höhe des Samens ist am Embryo ein nach außen gekehrter, schmaler Einschnitt zu sehen, in dem der Vegetationskegel des Stämmchens liegt. Dieser Vegetationskegel wird von der Keimscheide umschlossen. Ihm entspringt eine median nach außen (in unserem Bilde nach links) stehende Blattanlage (*fl*), die den Einschnitt vollständig ausfüllt. Der zwischen diesem Vegetationskegel und dem Wurzelende befindliche Teil ist das Hypokotyl. Das Hypokotyl setzt sich in das eine Keimblatt fort. Dieses zeigt sich, der Gestalt der Samenhöhle gemäß, umgebogen, verjüngt sich langsam gegen seine Spitze und erreicht schließlich mit ihr das Chalazaende des Samens. Von Endosperm ist im reifen Samen auch nicht eine Spur vorhanden. Der Keim selbst zeigt sich in allen seinen Zellen dicht mit Stärke erfüllt. — Die Querschnitte bieten uns naturgemäß gleichzeitig je 2 Querschnitte durch den Keim, die durch einen schmalen, in die innere Zellage der Testa übergehenden Gewebestreifen getrennt sind. Der Bau der Testa ist hier deutlicher als auf Längsschnitten.

Über die Entwicklungsgeschichte des Keims, der Samenschale und Fruchtschale von Alisma Plantago wollen wir uns noch in den Hauptzügen orientieren. Um auch über die Anlage des Endosperms sichere Ansicht zu gewinnen, sind in Alkohol gehärtete Präparate notwendig, die, bevor sie geschnitten werden, einen Tag in einem Gemisch von Alkohol und Glyzerin liegen müssen. Wir stellen uns sowohl aus frischem als aus Alkohol-Material eine Anzahl von Längsschnitten zwischen den Fingern her, und zwar wählen wir zum Schneiden Zustände aus, die in regelmäßigen Abständen von der Blüte bis zur reifenden Frucht fortschreiten. Durchmustern wir hierauf sorgfältig diese Präparate, so können wir an ihnen eine im wesentlichen richtige Vorstellung über die sich abspielenden Entwicklungsvorgänge gewinnen. Die Fruchtwand bildet während ihres Reifens nur die im Fruchtknoten bereits vertretenen Elemente aus, wir wollen daher von ihr absehen. Die gekrümmte (kampylotrope) Samenknospe füllt die Fruchtknotenhöhle zunächst nicht aus, es geschieht das erst während ihrer weiteren Entwicklung. Sie kehrt, wie wir schon wissen, ihre Mikropyle nach der Rückenkante des Fruchtknotens. Zwei je 2 Zelllagen starke Integumente sind vorhanden. Der Embryosack hat frühzeitig den Nucellus verdrängt. Gleich nach vollzogener Befruchtung wird auch unter dem Druck des sich vergrößernden Embryosacks die äußere Zellage des inneren Integuments zerquetscht und resorbiert. Zerquetscht wird alsbald auch, doch ohne Resorbtion, die innere Zellage des äußeren Integuments und dadurch die Testa auf nur zwei deutlich sichtbare Zellagen beschränkt. Alkohol-Präparate führen uns an der Wand des Embryosacks freie Kerne in regelmäßigen Abständen vor; diese Kerne gingen durch Teilung aus dem sekundären Embryosackkern hervor. Die aus dem be-

fruchteten Ei sich entwickelnde Embryoanlage erscheint alsbald als Zellfaden (Vorkeimfaden), dessen basale Zelle (die Insertionszelle) blasenförmig anschwillt. Meist sind es fünf vordere Zellen des Vorkeims, die sich hierauf durch Längswände teilen, während in drei hinteren Zellen diese Teilungen unterbleiben. So gliedert sich der Vorkeim in einen keulenförmigen Teil, die eigentliche Keimanlage, und einen kurzen Stiel, den Suspensor, dem auch die angeschwollene, basale Zelle zugehört. Hat der Embryosack annähernd seine definitive Größe erreicht, so werden zwischen den Zellkernen seines plasmatischen. Wandbelegs Zellwände ausgebildet, und so dieser Wandbeleg in eine Endospermschicht verwandelt; doch bleibt die weitere Endospermbildung nur auf die beiden Enden des Embryosacks beschränkt. Die Keimanlage hat inzwischen eine gestreckt eiförmige Gestalt erhalten; eine äußere Zellage an ihr ist bereits als Dermatogen abgegrenzt. In halber Höhe der Keimanlage wird an der nach außen gekehrten Seite alsbald eine seichte Ausbuchtung sichtbar, welche die Grenze zwischen dem kotylen und hypokotylen Keimteil bezeichnet. Der untere, an den Suspensor grenzende Teil schließt sich gleichzeitig durch Bildung des Wurzelendes ab. An diesem Abschluß sind auch hier die obersten Zellen des Suspensors als Keimanschluß oder Hypophyse beteiligt. An nächstälteren Anlagen ist die seitliche Einbuchtung in halber Höhe des Keims vertieft und es beginnt sich in ihr der Vegetationskegel des Stämmchens auszubilden. Die unterhalb der Einbuchtung gelegene Hälfte der Embryonalanlage wird, wie schon berührt, zum hypokotylen Glied, die oberhalb gelegene zum Keimblatt (Kotyledo), das somit zu gleicher Zeit mit dem hypokotylen Glied und in dessen unmittelbarer Fortsetzung angelegt wird. Nach Ausbildung der vorderen Vertiefung und des Vegetationskegels des Stämmchens nimmt das Keimblatt rasch an Länge zu und verjüngt sich an seinem oberen Ende. Es hat mit seiner Spitze die Krümmungsstelle des Embryosacks um die Zeit erreicht, wo die Endospermbildung beginnt. Es biegt sich um und wächst weiter dem Chalazaende des Embryosacks zu. An dem Vegetationskegel des Stämmchens wird die erste Blattanlage sichtbar. Schließlich hat das Keimblatt die Chalaza erreicht, während gleichzeitig sein Wurzelende abwärts rückt und nach Verdrängung des hier gebildeten Endosperms und des Suspensors die Mikropyle erreicht. Der Keim füllt jetzt den Embryosack aus, während alles Endosperm zugleich schwinden mußte. Die Wand des Embryosacks ist aber während dieser ganzen Entwicklungszeit deutlich geblieben, hat sogar an Dicke zugenommen und ist mit der inneren Schicht des inneren Integuments verwachsen, sich so an der Bildung der Testa beteiligend. — Das sind die wesentlichsten Züge der Samen- und Keimentwicklung. Wollten wir die Zellfolge in der Keimanlage studieren, so müßten wir die Keimanlage, so wie wir dies bei Capsella getan, aus der Samenanlage befreien. Wir ziehen dann letztere zunächst unter dem Präpariermikroskop mit den Nadeln aus dem Fruchtgehäuse heraus, öffnen sie an dem Mikropylende und drücken ein wenig mit der Nadel darauf. Die Keimanlage tritt dann, ganz so wie bei Capsella, aus dem Embryosack hervor. Diese Operation ist in Wasser zu vollziehen, falls wir den Keim nach der bei Capsella erprobten Art weiter mit Kalilauge und Essigsäure behandeln wollen; wir können hier aber auch die Keime in günstigster Weise mit einem Gemisch von gleichen Teilen Karbolsäure und Alkohol durchsichtig machen und befreien dann die Keime auch direkt in dieser Lösung.

Karbolsäure allein macht die Keime zu durchsichtig und ist somit nicht zu empfehlen.

Die beiden von uns untersuchten angiospermen Pflanzen führen uns recht typische, aber auch extreme Beispiele für die Keimbildung bei den dikotylen und monokotylen Pflanzen vor, Typen, welche weit entfernt sind, die ganze Mannigfaltigkeit der beobachteten Fälle zu erschöpfen. So gibt es unter den Dikotylen sogar Beispiele von Keimen, die nur e i n Keimblatt besitzen (Carum Bulbocastanum, Ranunculus Ficaria u. a.) und bei Monokotylen solche, wo das Keimblatt seitlich von dem terminal angelegten Vegetationskegel des Stämmchens entsteht (Dioscoreaceen, Commelineen)[1]. Endlich gibt es Samen, in denen die Embryonalanlage auf einem wenigzelligen Zustand beharrt.

Wir wollen noch die Weizenkörner, Früchte von Triticum vulgare, untersuchen, wegen des naheliegenden Interesses, das sich an sie knüpft. Am besten verwenden wir eben gereifte Körner oder solche, die entweder in Wasser bzw. durch Aufbewahren in gleichen Teilen Glyzerin und Alkohol aufgeweicht worden sind. Benutzen wir aufgeweichtes Material, so müssen wir beachten, daß es nur eben jenen Grad von Weichheit besitze, der zum Schneiden erwünscht ist und der manchmal auch auf dem Wege erreicht werden kann, daß man die Weizenkörner einen oder mehrere Tage lang vor der Untersuchung in einen feuchten Raum, etwa eine große feuchte Kammer, bringt. — Das reife Weizenkorn[2]) zeigt in seiner Mediane an der inneren, d. h. der der Vorspelze zugekehrten Seite, eine tiefe, der Bauchnaht des Fruchtknotens entsprechende Furche. Am Grund der entgegengesetzten Seite ist der Keim als elliptisch umschriebene, nach unten in einen kegelförmigen Vorsprung auslaufende Vorwölbung sichtbar. Dem abgeflachten Scheitel des Korns entspringen zusammenneigende Haare, das sog. Schöpfchen oder Gipfelpolster bildend. Zwischen diesen Haaren ragen wohl auch noch die fadenförmigen Reste der Griffel vor. Das Weizenkorn ist kein nackter Samen, vielmehr eine einsamige, trockene Schließfrucht, eine Karyopse, an der wir somit die der Frucht und dem Samen zufallenden Teile werden auseinander zu halten haben. — Wir führen zunächst dünne Querschnitte etwa in halber Höhe des Korns und untersuchen sie in Wasser oder in Glyzerin, weiterhin auch nach Zusatz von Kalilauge. Die komplizierten Verhältnisse in der Furche lassen wir zunächst unberücksichtigt und halten uns an andere Stellen des Präparats. Wir finden an der Schale zu äußerst eine ein- bis mehrschichtige Lage ziemlich stark verdickter und getüpfelter Zellen, deren Wände stark lichtbrechend und gelblich sind, in Kalilauge stärker gelb sich färben. Die äußerste Schicht dieser Zellen ist die Epidermis (*ep*, Fig. 244 *A*), die weiterhin folgenden Schichten (*e*), die in ihren innersten Lagen größtenteils zerstört sind, gehören zu dem inneren Gewebe der Fruchtwand. Auf dieses äußere Gewebe folgt eine Schicht tangential gestreckter, gerader, oder auch mehr oder weniger gekrümmter Zellen (*chl*), die durch zahlreiche schmale, quergestellte Tüpfel ausgezeichnet sind. Hin und wieder sieht man an der Innenseite dieser getüpfelten Schicht auch noch schlauchförmige Zellen (*sl*), die der

[1]) Die Literatur bei K. GOEBEL, l. c. 1884, S. 169 ff.

[2]) Vgl. hierzu J. SACHS, Ann. d. Landw., Bd. XXXIX, 1862; A. NOWACKI, Untersuchungen über das Reifen des Getreides usw., 1870; F. KUDELKA, Landw. Jahrb., 1875, auch als Leipziger Diss. erschienen unter dem Titel: Über die Entwicklung und den Bau d. Frucht- und Samenschale unserer Cerealien. Vgl. auch A. SCHLICKUM, Biblioth. bot., H. 35, 1896, und die dort zusammengestellte Literatur.

Innenepidermis der Fruchtwand entsprechen. Das ist hier alles, was von der Fruchtwand verblieb. Das weiter nach innen folgende Gewebe gehört dem Samen an. Es wird von der Fruchtwandung durch mehr oder weniger zahlreiche Luftlücken getrennt. Die Samenschale zeigt zunächst eine dünne, scheinbar homogene, farblose Haut, die aus einer obliterierten Zellschicht hervorging; auf diese folgt eine annähernd ebenso schmale Zellschicht, deren seitlich schwer abzugrenzende Lumina braunen Inhalt führen (beide Zellschichten in der Figur mit *ii* bezeichnet). Beide zusammen bilden die

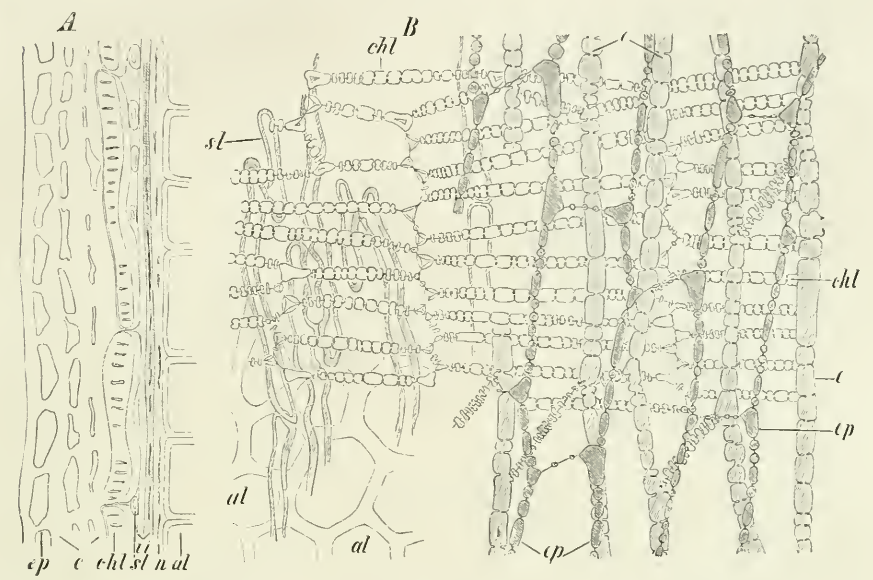


Fig. 244. Triticum vulgare. *A* Querschnitt durch die Fruchtwandung und Samenschale. Dabei *ep* die Epidermis, *e* an die Epidermis angrenzende Schichten, *chl* die Chlorophyllschicht, *sl* Schlauchzellen: diese alle gehören zur Fruchtwandung; *ii* die aus dem inneren Integument hervorgegangene Hülle, *n* die äußerste, verdickte Schicht des Nucellus: diese zusammen bilden die Samenschale; *al* Aleuronschicht des Endosperms. Vergr. 240. *B* tangentialer Oberflächenschnitt. Die Wände einzelner Zellschichten durch verschieden starke Schraffierung hervorgehoben. Im rechten Teil der Figur sind die oberen Zellschichten, im linken die tieferen zur Darstellung gebracht. Buchstaben wie bei *A*. Vergr. ca. 300.

Samenschale; die Umrisse ihrer Zellen sind auf Tangentialschnitten sichtbar. Alle Elemente der Frucht- und Samenschale sind, soweit sie noch ein Lumen führen, mit Luft erfüllt. An die Samenschale schließt eine relativ dicke, stark lichtbrechende, weiße Haut an (*n*), die der äußersten Schicht des Nucellus ihren Ursprung verdankt. Die ursprünglichen Lumina der Zellen sind in ihr durch schmale, körnige, tangentiale Streifen angedeutet. An diese Haut setzt die uns von früher (S. 121) her bekannte Schicht rechteckiger, Aleuron führender Endospermzellen (*al*)[1] an; auf diese folgen endlich die inneren, Stärke führenden Endospermzellen. — Verfolgen wir jetzt die Fruchtwand in die Furche hinein, so sehen wir, daß innerhalb dieser das an die Epidermis anschließende Gewebe

[1]) Näheres über diese bei Fr. Netolitzky, Österr. bot. Zeitschr., Bd. LXIV, 1914, S. 269 ff.

an Masse zunimmt; zugleich wird es nach innen zu fortschreitend großzelliger. In der Mediane selbst nehmen seine Elemente wieder an Größe ab, werden dünnwandig, interstitienlos und bergen das schwachentwickelte Leitbündel in ihrer Mitte. Nach innen geht das dünnwandige Gewebe in eine quere Gewebeplatte aus stärker verdickten, radial angeordneten Zellen über, deren Wände graubraun, in Kalilauge gelbbraun gefärbt erscheinen. Die Samenschale faltet sich in der Tiefe der Furche auf beiden Seiten ein. Die quergetüpfelte Schicht (*chl*) der Fruchtwand folgt der Samenschale, schwillt aber zugleich an und wird chlorophyllhaltig. In der Tiefe der beiden Falten vermehrt sich das chlorophyllhaltige Gewebe und zeigt große Luftlücken. Die Samenschale endet an den Seiten der graubraunen Gewebeplatte. Die äußere Nuzellarschicht geht andererseits in ein Polster aus stark verdickten, weißglänzenden Zellen über, das die Innenfläche der graubraunen Gewebeplatte deckt. Die Aleuronschicht fehlt oft mehr oder weniger vollständig vor dem Nucellarpolster. Der Endospermkörper zeigt sich noch stärker eingefaltet als die Samenhaut. Eine scharfe Grenze zwischen den Geweben des Samens und der Frucht ist in der Furche nicht vorhanden. — Ein tangentialer Schnitt von der Oberfläche des Korns (Fig. 244 *B*) zeigt uns, daß die Epidermis (*ep*) und das anschließende Gewebe (*e*) der Fruchtwandung aus longitudinal gestreckten, das Gewebe der getüpfelten Schicht (*chl*) hingegen aus quer gestreckten, somit die Außenschichten rechtwinklig schneidenden Zellen besteht. Am besten gelingt uns da der Einblick, nachdem wir diesen Schnitt etwa 2 Std. lang in Chloralhydrat liegen ließen[1]). Auf die longitudinal verlaufenden „Längszellen" und quer verlaufenden „Querzellen" ist dann leicht einzustellen, so auch auf die unter ihnen etwa befindlichen, der Innenepidermis der Fruchtwandung entsprechenden Schlauchzellen (*sl*). In der Samenschale lassen sich alsdann auch die Umrisse der zusammengedrückten Zellen (in der Fig. *B* nicht dargestellt), ferner die darunter folgenden Aleuronzellen (*al*) erkennen.

Jetzt müssen wir es versuchen, einen genau medianen Längsschnitt durch das reife Weizenkorn zu erhalten, wozu wir aber keinesfalls lufttrockene, vielmehr aufgeweichte (vgl. S. 636) oder besser noch, eben gereifte Körner benutzen. Besonders schön zeigt sich uns der Keim an Schnitten, die wir in Karbolsäure untersuchen, oder die wir mit Kalilauge behandeln und hierauf in Glyzerin legen. Wir haben den Schnitt zunächst bei schwacher Vergrößerung zu betrachten und gehen nur für das eingehendere Studium der einzelnen Teile zu stärkeren Vergrößerungen über. Wir beginnen mit dem Keim. Er liegt schräg dem Grund des Endospermkörpers an (vgl. Fig. 245) und berührt ihn mit dem Schildchen (Scutellum) (*sc*). Das Schildchen erscheint im Längsschnitt als ein flaches Gebilde, das sowohl an seinem oberen als auch an seinem unteren Rand mit einem stumpfen Fortsatz frei endet. An das Schildchen grenzt in der oberen Hälfte des Keims die scheidenförmige Koleoptile (Keimscheide, Kotyledonarscheide) (*c*). Diese Scheide umfaßt mehrere, nach innen zu an Größe abnehmende Laubblattanlagen. Die größte dieser Blattanlagen steht median nach außen. Zwischen den jüngsten Laubblattanlagen liegt der in dieser Ansicht relativ schmal und steil erscheinende Vegetationskegel (*pv*). Er bildet mit den Laubblattanlagen zusammen das Knöspchen, die Plumula.

[1]) Vgl. A. F. W. Schimper, Anleitung zur mikrosk. Untersuchung d. Nahrungs- und Genußmittel, 1886, S. 7.

Getragen wird die Plumula und das Keimblatt von dem Stengelchen, dem Hypokotyl (*hp*). An das Hypokotyl schließt das nach unten und etwas schräg nach vorn gerichtete Würzelchen (Radicula) (*r*). An diesem zeigt sich schon bei schwacher Vergrößerung der innere, kegelförmig abgeschlossene Pleromkörper, der von Periblem und Dermatogen umhüllt wird. Periblem und Dermatogen laufen am Scheitel in eine einzige Zellschicht zusammen. In der Mitte des Pleromkörpers ist die Anlage des ersten Gefäßes sehr leicht zu sehen und bis an den Pleromscheitel hin zu verfolgen. Als heller Deckel liegt auf der Wurzelspitze die Wurzelhaube (*cp*). Diese ganze Wurzelanlage steckt in einer geschlossenen Scheide, der Koleorrhiza (*cl*), und ist gegen sie scharf durch eine helle Linie abgesetzt, die den verdickten Wänden ihrer Dermatogenzellen entspricht. Diese helle Linie verliert sich an der Wurzelspitze zwischen dem Wurzelkörper und der Wurzelhaube. An ihrer Basis geht die Wurzelscheide in das Gewebe des hypokotylen Gliedes über. An ihrem die Wurzelspitze umhüllenden Scheitel ist die Scheide zu einem warzenförmigen, hell sich zeichnenden Vorsprung angeschwollen (vgl. die Figur); an ihrem oberen und äußeren Rand, dort, wo die Wurzelscheide in das Hypokotyl übergeht, ist ein freier Fortsatz, der Epiblast (*l*), zu sehen. Ein Strang gestreckter Zellen (*vs*) läßt sich aus dem hypokotylen Glied in das Schildchen verfolgen; außerdem fallen die Epidermiszellen (*ce*) an der Außenfläche des Schildchens durch ihre bedeutende, radiale Streckung auf. — Das Schildchen soll der Spreite der späteren Grasblätter entsprechen, das Keimblatt somit ohne Scheide sein und terminal das Hypokotyl fortsetzen, während es abwärts an ihm in eine Anschwellung ausläuft. Die Keimscheide wird als geschlossene Ligula des Keimblatts aufgefaßt, und auch der Epiblast als Anhängsel des Schildchens gedeutet[1]). Das auf seiner dem Endosperm zugekehrten Seite durch schwache Einfaltungen seiner oberen Schichten gerunzelt erscheinende Schildchen verbleibt bei der Keimung im Samen und dient als Saugorgan. Die Nahrungsaufnahme wird durch die zylindrischen Epidermiszellen (Zylinderepithel) vermittelt und dauert so lange fort, bis alle Reservestoffe des Endosperms erschöpft sind. — Über den Bau der Frucht- und Samenschale, sowie jenen der inneren Gewebe des Samens werden wir rasch hinweg-

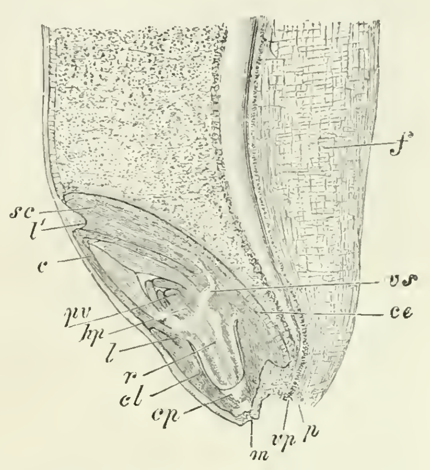


Fig. 245. Triticum vulgare. Medianer Längsschnitt durch den unteren Teil einer reifen Frucht. In dieser links unten der Keim mit dem Scutellum *sc*, *l'* dem zahnartigen Auswuchs am Scutellum, *vs* seinem Leitbündel, *ce* seinem Zylinderepithel, *c* der Keimscheide, *pv* dem Stammvegetationskegel, *hp* dem hypokotylen Glied, *l* dem Epiblast, *r* der Radicula, *cp* der Wurzelhaube der Radicula, *cl* der Wurzelscheide. In *m* Austrittsstelle der Radicula, der Mikropyle der Samenanlage entsprechend, *p* der Fruchtstiel, *vp* dessen Leitbündel, *f* Seitenwandung der Furche. Vergr. 14.

[1]) L. J. Celakovsky, Bot. Ztg., LV. Jahrg., 1897, 1. Abt., S. 141. S. dazu u. a. J. Velenovsky, Vergleichende Morphologie der Pflanzen, II. Teil, Prag 1907, S. 327 ff.

gehen können. Wir sehen, daß der Embryo nach außen unmittelbar der Samenschale anliegt. Die Fruchtschale ist hier etwas dicker, doch lockerer gebaut. Unter dem warzenförmigen Scheitel der Koleorrhiza, d. h. an der Stelle, an der das Würzelchen bei der Keimung hervortreten soll, ist die Schale auf die Epidermis der Fruchtwandung und auf die Samenwandung reduziert und zeigt hier eine Einsenkung (*m*). Die Frucht ist mit einem kurzen Stiel (*p*) an der Ährchenspindel befestigt. Wir sehen hier das Leitbündel (*vp*) eintreten, das in dem mit der Fruchtwandung verschmolzenen Funiculus des Samens aufwärts läuft. Nach innen zu von diesem wenig sich markierenden Leitbündel liegt ein viel auffälligerer Strang aus graubraunen, gestreckten, flach getüpfelten Zellen, die uns bereits im Querschnitt auffielen. Das Leitbündel selbst ist in zartwandigen, farblosen, wenig gestreckten Zellen eingebettet. Nach innen, vor dem graubraunen Strang, liegt die uns auch schon bekannte, mehrschichtige Lage von Nucellarzellen mit ziemlich starken, weißen Wänden, und an diese grenzt erst die Aleuronschicht des Endosperms. Diese löst sich leicht von den Nucellarzellen ab, so daß der Samen an dieser Stelle oft eine Luftlücke zeigt. Gegen den Keim hin ist das Endosperm nicht durch eine Aleuronschicht abgegrenzt, wohl aber durch eine ziemlich dicke Haut aus gequollenen Zellwänden, welche Endospermzellen entstammen, die durch den sich vergrößernden Keim verdrängt und zerquetscht worden sind. Auch genau mediane Schnitte von geringer Dicke pflegen eine Seitenwand der Rückenfurche (*f*) zu enthalten, und diese zeigt uns somit die Fruchtwand von der Fläche. Da muß uns denn von neuem die Kreuzung der längsgestreckten Epidermis und der quergestreckten Innenschicht auffallen. Am Scheitel der Frucht sind die Epidermiszellen zu langen, einzelligen, fast bis zum Schwinden des Lumens verdickten Borsten ausgewachsen, die das Gipfelpolster der Frucht bilden.

Zur Vervollständigung des Bildes sind noch aufeinanderfolgende Querschnitte durch die den Keim bergende Partie der Frucht notwendig. Da der Keim schräg dem Endosperm anliegt, so muß die Frucht beim Schneiden entsprechend gehalten werden. Bei weitem besser ist es, die Querschnitte mit dem Radikularende des Keims zu beginnen, doch fällt der obere Teil der Keimscheide aus den Schnitten heraus, sobald diese die Keimblattbasis überschreiten. Die fehlenden Schnitte müssen in entgegengesetzter Richtung aus einer anderen Frucht ergänzt werden. Um in der entgegengesetzten Richtung schneiden zu können, werden wir die betreffende Frucht am besten auf die Spitzen einer Pinzette spießen. Es empfiehlt sich, die erhaltenen Schnitte wieder in Karbolsäure oder Chloralhydrat zu untersuchen. Wir schreiten mit unserer Betrachtung von der Radicula gegen die Plumula vor. Der erste Schnitt durch den Keim trifft nur die Spitze der Koleorrhiza. Der zweite zeigt uns innerhalb der Koleorrhiza den Scheitel der Radicula. Die Koleorrhiza sitzt an der einen Seite dem muldenförmig vertieften Scutellum an. Von diesem wie von dem Gewebe der Radicula sticht das Gewebe der Koleorrhiza durch seine lufthaltigen Interzellularräume ab. Auf nächsthöheren Schnitten ist die Anlage des zentralen Gefäßes in der Radicula zu sehen; eine mit lufthaltigen Interzellularräumen versehene innere Rinde beginnt von einer luftfreien äußeren abzustechen. Höher hinauf zeigt die Veränderung, welche die inneren Gewebe erfahren, an, daß wir in das hypokotyle Glied gelangt sind. Zu beiden Seiten entspringen der Basis des hypokotylen

Gliedes die Anlagen je einer Seitenwurzel. Sie richten ihre Spitzen schräg nach außen und haben die Koleorrhiza so weit verdrängt, daß sie mit ihrem Scheitel die Samenschale fast berühren. Unmittelbar über diesen Seitenwurzeln, die in ihrer Entwicklung nur wenig der Hauptwurzel nachstehen, befinden sich zwei andere, jüngere, sonst genau ebenso orientierte Seitenwurzeln. Dieses obere Wurzelpaar ist noch nach allen Richtungen hin gleichmäßig in dem Gewebe der Koleorrhiza eingeschlossen. Die nämlichen Schnitte, welche das oben erwähnte Wurzelpaar treffen, zeigen auch an der Außenseite des Keims den Epiblasten. Ein nächsthöherer Schnitt führt uns bereits die Basis der stengelumfassenden, allseitig geschlossenen Keimscheide vor, die auf der einen Seite mit dem Scutellum verschmolzen, im übrigen frei ist. Im hypokotylen Glied zeichnen sich deutlich die Prokambiumstränge, von denen einige bereits eine differenzierte Schraubentracheïde enthalten. Ein Prokambiumstrang tritt median in das Scutellum ein und gibt bei seinem Austritt je einen Seitenzweig an die Keimscheide ab. Der nächste Querschnitt legt den Vegetationskegel und 3 Laubblatt-Anlagen frei. Das erste Blatt steht median nach außen, dem Keimblatt somit gegenüber, die weiteren Blattanlagen folgen in derselben Weise alternierend. Die Blätter sind stengelumfassend. Das älteste zeigt zahlreiche, wohl differenzierte Prokambiumstränge und diesen entsprechende, innere Rippen. Die Keimscheide begnügt sich hingegen mit den beiden Bündelzweigen, die sie erhielt und die sich lateral stellen. Weiter hinauf ist die Keimscheide auch gegen den Epiblasten frei. Der Hohlraum, den sie einschließt, verengt sich immer mehr nach oben. Bis zuletzt bleibt aber diese Scheide rings geschlossen, ohne eine nach außen mündende Furche. Diese verwächst nämlich während der Entwicklung des Keims frühzeitig. Bei der Keimung wird die Scheide an ihrem Scheitel von der Plumula durchbrochen. In seinem oberen Teil zeigt das Scutellum einen zahnartigen, der Keimscheide anliegenden Auswuchs (*l'*). — Betrachten wir nach erfolgter Orientierung den am Korn haftenden Keim von außen, so stellen wir jetzt fest, daß an diesem außer der Radicula auch die beiden unteren, stärkeren Seitenwurzeln als Vorsprünge zu sehen sind. Diese beiden Seitenwurzeln sind durch einen nach oben vorgewölbten Wulst verbunden. Tangentiale Längsschnitte, die wir hierauf, von außen nach innen fortschreitend, durch den Keim führen, zeigen uns zunächst, daß der bogenförmig zwischen den beiden Seitenwurzeln vorspringende Wulst der Epiblast ist. Um diesen gut zu sehen, muß man, was leicht gelingt, vor dem Ausführen des betreffenden äußersten Schnittes die Schale entfernen. Die nächstfolgenden Schnitte sind dadurch interessant, daß sie uns gleichzeitig die Radicula und die Anlagen der beiden Seitenwurzelpaare vorführen. Die Insertion der letzeren ist hierbei leicht zu verfolgen. Der Vegetationskegel des Stämmchens erscheint in dieser Ansicht breiter und weniger steil.

Um Einblick in den Bau der das Korn deckenden S c h a l e zu gewinnen, müssen wir deren E n t w i c k l u n g s g e s c h i c h t e verfolgen. Der Fruchtknoten erscheint uns in der Blüte als ein verkehrt konisches Gebilde, das sich nach oben hin erweitert und dort stumpf endet. Dieser stumpfe obere Teil ist mit Borstenhaaren besetzt und trägt in seiner Mitte zwei auseinanderspreizende Griffel. Letztere sind federartig verzweigt, entsprechend den Anforderungen, welche die durch Vermittlung des Windes sich vollziehende Bestäubung stellt. An den zarten Seitenzweigen, die den

sich allmählich verjüngenden Griffeln entspringen, und die wir als Narbenzweige bezeichnen können, wächst jede einzelne Zelle seitlich in eine freie Spitze aus; so erhalten die Narbenzweige ein gezähntes Aussehen. In älteren Blüten sieht man Pollenkörner in großer Zahl an den Narbenzweigen haften; sie haben aus der einzigen, runden, kraterförmigen Öffnung ihrer Exine einen Pollenschlauch getrieben. Dieser schmiegte sich der zahnartig vorspringenden Narbenzelle an, drang an ihrem Grund in den Narbenzweig ein und wuchs dort zwischen den Narbenzellen abwärts in der Richtung der Fruchtknotenhöhle. Innerhalb der letzteren gelangte er an der Oberfläche der sich rasch desorganisierenden, äußeren Integumente der Samenanlage bis zur Mikropyle. — Die mediane Längsfurche an der Innenseite des Fruchtknotens wird als Bauchnaht der zwei den Fruchtknoten bildenden, lateralen Fruchtblätter aufgefaßt, die von den ursprünglichen drei Karpellen übrigblieben[1]); sie hat zunächst nur geringe Tiefe. Wie der mediane Längsschnitt zeigt, füllt die eine, mit 2 Integumenten versehene, anatrope, etwas gekrümmte Samenanlage die Fruchtknotenhöhle völlig aus. Der Funiculus der Samenanlage ist mit der Fruchtknotenwand an deren Bauchnaht verwachsen. Die Verwachsungsstelle entspricht somit der äußeren Furche. Das schwache Leitbündel, das hier verläuft, ist als zur Samenanlage gehörig aufzufassen. Querschnitte führen uns noch zwei schwache, lateral orientierte, den beiden Karpellen angehörende Leitbündel vor, die in dem Parenchym der Fruchtknotenwand verlaufen und die beiden Griffel versorgen. Längs- bzw. Querschnitte, die den Fruchtanlagen in aufeinanderfolgenden Entwicklungszuständen entnommen werden, zeigen die rasche Vergrößerung des Embryosacks nach der Befruchtung[2]). Die an Größe zunehmende Keimanlage tritt uns gleichzeitig in den Schnitten entgegen. Der Nucellus wird bis auf die äußerste Zellschicht verdrängt. Zugleich füllt sich der Embryosack mit Endosperm, an dem die äußerste Schicht, die spätere Aleuronschicht, alsbald durch ihren Inhalt absticht. Das äußere Integument, das, wie das innere, zweischichtig ist, wird sehr bald resorbiert; es zeigt sich vor seiner Resorption von zarten, longitudinal gestreckten Zellen gebildet und ist von Anfang an nicht leicht nachzuweisen. Gleichzeitig schwindet bis auf geringe Überreste die aus farblosen, zarten Zellen gebildete, innere Epidermis der Fruchtknotenwand. Hingegen bleibt die an diese Epidermis stoßende, sich scharf zeichnende, chlorophyllhaltige Zellschicht erhalten. Diese ist es, die wir im fertigen Zustand als quer gestreckte, mit radial verlaufenden, spaltenförmigen Tüpfeln versehene Zellage wiederfinden. Das ganze zwischen dieser Chlorophyllschicht und den äußersten Schichten der Fruchtknotenwand gelegene, lockere, parenchymatische Gewebe wird verdrängt und z. T. resorbiert; es bleiben somit im fertigen Zustand von der Fruchtknotenwand nur Spuren der inneren Epidermis, die innere Chlorophyllschicht, die äußere Epidermis und einige an letztere grenzende Zellschichten übrig. Auf den Schnitten mittlerer Entwicklungszustände trennt sich die Chlorophyllschicht sehr leicht von den nach außen an sie stoßenden, in Resorption begriffenen Geweben; daher hat es den Anschein, als gehöre die Chlorophyllschicht mit zur Samenschale. Letztere besteht aus den beiden Zellschichten des

---

[1]) Vgl. J. SCHUSTER, Flora, Bd. C, 1910, S. 216.

[2]) Die Einzelheiten bei der Entwicklung des Embryosacks von Triticum vgl. bei M. KOERNICKE, Verh. d. Naturhist. Vereins der preuß. Rheinlande usw., LIII. Jahrg., 1896, S. 149 ff., und W. E. BRENCHLEY, Ann. of Bot., Bd. XXIII, 1909, S. 117.

inneren Integuments und den bis zum Schwinden des Lumens verdickten Zellen der äußersten Nucellarschicht. Diese Nucellarzellen verdicken hierbei nur die Außen- und Innenwand, nicht die Seitenwände, die somit bis zuletzt zart bleiben, aber schließlich kaum mehr zu unterscheiden sind. — Das Längenwachstum des Fruchtknotens während seiner Umbildung zur Frucht ist bedeutend, so daß die Frucht etwa die achtfache Höhe des Fruchtknotens aufweist: von 1 mm ist sie auf 8 mm gewachsen. Das Breitenwachstum ist hingegen nur gering und steigt etwa nur von 1 auf 1,5 mm. — Während das Korn zur endgültigen Größe heranwächst, wird es intensiv grün gefärbt und erreicht die sog. Grünreife. Diese grüne Färbung wird bewirkt durch die Auflösung der mittleren Gewebe der Fruchtknotenwandung und das dadurch veranlaßte Herantreten der Chlorophyllschicht an die Außenschichten. Hierauf werden die Chlorophyllkörner in der Chlorophyllschicht desorganisiert, und das Korn erscheint nun gelbreif durch die Gelbfärbung der Wände der Epidermis und der stark verdickten, dieser angrenzenden Außenschichten.

Wie der Landwirt oft zu seinem Nachteil erfahren muß, keimt das gereifte Weizenkorn sehr leicht; wir wollen diese seine Eigenschaft zur Betrachtung der ersten Keimungsstadien benutzen. Um solche zu erlangen, reicht es hin, die reifen Früchte in feuchte Sägespäne einzulegen, oder reife Ähren mit dem unteren Teil in einem Wasserglas mehrere Tage lang stehen zu lassen. Die Schale des Korns wird zunächst an der schwächsten, der Mikropyle der Samenanlage entsprechenden Stelle (Fig. 245 *m*) durchbrochen, und es wölbt sich die Koleorrhiza hervor, aus deren Spitze alsbald die sich rasch verlängernde Radicula heraustritt. Die Koleorrhiza umfaßt letztere an der Basis als Scheide. Oberhalb dieser Stelle treten hierauf die Seitenwurzeln des unteren Paares hervor, an ihrer Basis ebenfalls von ihren zunächst sich verlängernden Wurzelscheiden umgeben. Der ganze Keim schwillt bedeutend an und sprengt mehr oder weniger vollständig die ihn deckende Schale. Hebt man diese ab, so kann man leicht mit der Lupe zwischen der Basis der beiden Seitenwurzeln den Epiblast sehen. Die Keimscheide streckt sich und nimmt grünliche Färbung an. Sie wird erst, nachdem sie wohl das 50-fache ihrer ursprünglichen Länge erreicht hat, an ihrer Spitze von dem lebhaft grünen, ersten Laubblatt durchbrochen. Wesentlich später als das untere tritt das zweite, obere Seitenwurzelpaar hervor. Der ursprüngliche Abstand der Teile bleibt in der Gegend der Anlage der Seitenwurzeln erhalten und zeigt, daß das Hypokotyl kein wesentliches Längenwachstum erfährt. Die Seitenwurzeln holen alsbald die Hauptwurzel in der Entwicklung ein, eine Pfahlwurzel wird somit selbst im Keimungsstadium nicht ausgebildet. — Von einem Keimling, der bereits alle seine Wurzelanlagen hervorgetrieben hat, schneiden wir jetzt die langgewachsenen Teile ab und führen hierauf einen medianen Längsschnitt durch die Frucht. Es zeigt sich nun leicht, daß der Vegetationskegel so ziemlich noch in seiner alten Stellung verblieben ist und nur eine Anzahl neuer Blattanlagen erzeugt hat. Das Scutellum hat überhaupt nicht an Größe zugenommen, wohl aber sein „Zylinderepithel". Dessen Zellen haben sich noch mehr gestreckt und seitlich mehr oder weniger vollständig isoliert, so daß sie Haaren gleichen; sie führen reichen protoplasmatischen Inhalt. Nach Beginn der Keimung läßt sich im Scutellum Stärke nachweisen, die vorher dort fehlte[1]). — Von großem Interesse ist

[1]) Vgl. S. Rywosch, Zeitschr. f. Bot., 1. Jahrg., 1909, S. 584.

es für uns jetzt, ein wenig von dem Endospermgewebe in einem Wassertropfen zu zerteilen und bei starker Vergrößerung zu untersuchen. Außer noch unversehrten Stärkekörnern treten uns da auch solche entgegen, die durch die bei der Keimung zur Wirkung kommende Diastase korrodiert worden sind (vgl. auch S. 113). Derartige Körner sehen eigentümlich verändert aus. Stellenweise noch weiß, von der ursprünglichen Dichte, ohne deutliche Schichtung, sind sie an anderen Stellen durchsichtig, scharf geschichtet, die konzentrischen Schichten von mehr oder weniger dichten radialen Streifen durchsetzt. Viele Körner sehen dabei wie von Würmern miniert aus. Schließlich werden solche Körner vollständig aufgelöst[1]).

Dieselben Orchideen, die wir zum Studium der Befruchtungsvorgänge benutzten, sollen uns auch noch zur Beobachtung der Keimentwicklung dienen, die bei diesen Pflanzen, wie auch sonst meist bei Humusbewohnern, auf dem ersten Stadium der Entwicklung stehen bleibt und erst während der Keimung eine weitergehende Gliederung des Embryos durchführt. Bei Orchis pallens weisen etwa 14 Tage nach der Befruchtung, somit im ganzen 4 Wochen nach der Bestäubung, die Keime das für uns erwünschte Stadium auf. Um die Luft, die den Hohlraum unter dem Nucellus der Samenanlage erfüllt und auch zwischen den Integumenten haftet, zu entfernen, müssen die Präparate entweder ausgepumpt, oder, was in den meisten Fällen ausreicht, etwas komprimiert werden. Leichter Druck auf das Deckglas genügt im allgemeinen, um dies zu erreichen, worauf die Embryonalanlage sichtbar wird. Sie zeigt auf diesem Entwicklungsstadium eine auffallende Eigentümlichkeit; ihr basales, der Mikropyle zugekehrtes Ende ist nämlich schlauchförmig zu der Mikropyle hervorgewachsen und hat sich durch fortgesetzte Teilung in einen Zellfaden verwandelt. Dieser Faden, der Suspensor, ist etwa 8 Zellen lang und verjüngt sich an seinem Ende. Seine Zellen führen je einen leicht sichtbaren Zellkern und Stärkekörner. Sie liegen in der Fruchtanlage dem Funiculus und der Placenta an und dienen dazu, die Nahrungsstoffe aus der Umgebung aufzunehmen und der Embryonalanlage zuzuführen[2]). Damit hängt zusammen, wie wir das durch Zusatz von Schwefelsäure nachweisen können, daß der Suspensor einer Kutikula entbehrt, während die Embryonalanlage von einer solchen umgeben ist. Der Embryo hat eiförmige Gestalt ohne weitere äußere Gliederung. Er füllt die Embryosackhöhle annähernd aus. Endosperm wird nicht gebildet, der Embryosackkern und die Kerne der Gegenfüßlerinnen sind verschwunden. Dabei hat die ganze Samenanlage kaum an Größe zugenommen. — Vergleichen wir jüngere Fruchtanlagen, so können wir feststellen, daß das befruchtete Ei sich zunächst durch quere Teilungen in einen kurzen Zellfaden, den Vorkeim, verwandelt, daß hierauf die scheitelständigen, d. h. dem Embryosackinnern zugekehrten Zellen dieses Fadens durch Längswände in Quadranten zerlegt werden. Es folgen dann perikline, antikline und radiale Wände und verwandeln die ganze Anlage in einen ovalen Zellkörper. Gleichzeitig wachsen die basalen, d. h. die der Mikropyle zugekehrten Zellen zu dem Suspensor aus. — Untersuchen wir die lufttrockenen, reifen Samen aus einer etwa 8 Wochen alten Fruchtkapsel, so finden wir sie stark gebräunt und von reichlich eingedrungener Luft undurchsichtig. Mit Alkohol können

[1]) Über die chem. Veränderungen im Weizenkorn während seiner Keimung vgl. H. A. Choate, Bot. Gaz., Bd. LXXI, 1921, S. 409 ff.

[2]) Vgl. M. Treub, Notes sur l'embryogénie de quelques Orchidées, 1879, S. 13.

wir die Luft entfernen und bekommen brauchbare Bilder. Noch besser werden diese, wenn wir die Samen hierauf mit Kalilauge und dann mit Jodjodkalium behandeln. Der Embryo ist ellipsoidisch. Der Inhalt seiner Zellen färbt sich gelbbraun, er besteht aus Klebermehl; die Scheidewände werden gut sichtbar. An der Basis des Embryos erkennt man die gebräunten Reste des Suspensors; außerhalb der Mikropyle ist dieser nicht mehr zu finden. Der Embryo füllt die Höhlung des Embryosacks aus und hat auch nach den Seiten hin das innere Integument verdrängt. Die Zellen des äußeren Integuments sind kutinisiert, doch nur an den welligen Seitenwänden und der Innenwand, wie dies der Zusatz von konz. Schwefelsäure lehrt; in letzterer schwindet alsbald auch der Inhalt des Embryos, und nur dessen Kutikula bleibt erhalten.

Ganz dieselben Entwicklungsvorgänge können wir für Gymnadenia conopea, die fliegenartige Höswurz, feststellen. Unter zahlreichen der durchmusterten Samenanlagen, welche die bereits zur Mikropyle hervorgetretenen Suspensoren zeigen, werden wir wohl einzelne finden, die 2 Embryonalanlagen einschließen und somit 2 Suspensoren zur Mikropyle hervorstrecken. Es handelt sich hierbei um Ausnahmefälle, wo 2 Eier in demselben Embryosack vorhanden waren und zugleich befruchtet wurden[1]).

Die dritte der von uns schon untersuchten Orchideen, Epipactis palustris, bildet hingegen keinen Suspensor[2]). Wir sehen, daß die ganze, durch quergestellte Wände in meist 3 Zellen zerlegte Embryonalanlage sich durch verschieden orientierte Wände teilt und in einen eiförmigen Keim verwandelt. Es bestehen somit Verschiedenheiten in der Embryonalentwicklung selbst innerhalb ein und derselben Familie. Einige Orchideen weisen sogar verzweigte Suspensoren auf, welche die ganze Samenanlage umgreifen, und auch bei manchen Dikotylen (so bei Tropaeolum) bilden die Suspensoren merkwürdige Auswüchse.

Ebenso leicht können wir bei dem Fichtenspargel, Monotropa Hypopitys, unsere Beobachtungen auf die ebenso unvollkommen bleibende Embryonalentwicklung ausdehnen. Hier wird, wie wir bereits gesehen haben (S. 618), bald nach der Befruchtung die Endospermbildung durch Teilung des Embryosacks eingeleitet. So entsteht ein wenigzelliger, schließlich ellipsoidischer Körper, der nach oben und unten mit zwei inhaltsleeren Zellen endet, welche die beiden Enden des Embryosacks einnehmen. Der fertige Embryo ist achtzellig; hier und da kommt noch eine kurze Zelle hinzu, die vom Suspensor dicht über dem Embryokügelchen abgegrenzt wird. Der Embryo wird hierauf durch Scheidewände in den anstoßenden Endospermzellen mehr oder weniger vollständig gegen das übrige Endosperm abgeschlossen. Die Objekte müssen mit Kalilauge durchsichtig gemacht, und, falls nötig, wieder ausgewaschen und mit Essigsäure behandelt werden, damit die Teilungswände im Embryo deutlicher hervortreten. — Am reifen Samen sind die Integumentzellen, soweit der Endospermkörper reicht, kutinisiert, die beiden Enden des Samens einfach vertrocknet.

In manchen Fällen finden wir eine größere Zahl von Keimen in einem Samen; diese Samen werden dann als polyembryonische bezeichnet[3]). Es lag

[1]) E. Strasburger, Jen. Zeitschr. f. Naturw., Bd. XII, 1878, S. 665.

[2]) M. Treub, l. c. 1879, S. 33. Auch W. H. Brown und L. W. Sharp, Bot. Gaz., Bd. LII, 1911, S. 439.

[3]) E. Strasburger, Befr. u. Zellt., 1877, S. 63, und Jen. Zeitschr. f. Naturw., Bd. XII, 1878, S. 647. Vgl. hierzu die entspr. Verhältnisse bei den Koniferen, S. 584 dies. Prakt.

nahe, anzunehmen, daß in solchen Fällen entsprechend viel Eier im Embryosack vorhanden waren und den Keimen den Ursprung gaben. Die Beobachtung hat diese Annahme nicht bestätigt. Es hat sich gezeigt, daß bei habitueller Polyembryonie[1]), die eine unbestimmte Anzahl von Keimen liefert, eigene Vorgänge im Spiel sind. Einer von diesen läßt sich an der in allen Gärten kultivierten Funkia ovata besonders leicht verfolgen. Wir konstatieren zunächst an Samenanlagen, die wir dem Fruchtknoten einer eben geöffneten Blüte entnehmen, daß im Scheitel des Embryosacks wie gewöhnlich 2 Synergiden und ein Ei vorhanden sind. Für diesen Nachweis benutzen

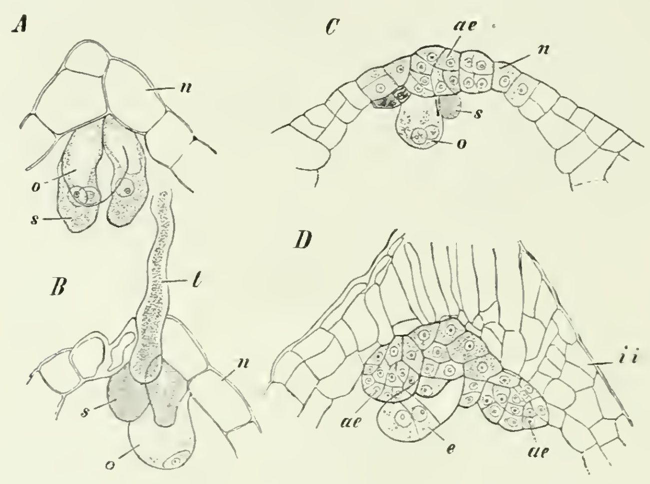


Fig. 246. Funkia ovata. *A* Embryosack- und Nucellus-Scheitel der Samenanlage mit Eiapparat vor der Befruchtung. *B* während der Befruchtung, mit Pollenschlauch. *A* u. *B* 300 mal vergr. *C* Zellen des Nucellarscheitels, in Teilung begriffen zur Anlage von Adventivkeimen, im Embryosack das befruchtete Ei mit zwei Zellkernen. *D* aus den Zellen des Nucellarscheitels sind zahlreiche Anlagen von Adventivkeimen hervorgegangen, dazwischen auch die aus dem befruchteten Ei entstandene Anlage *e*. *C* u. *D* 120 mal vergr. *n* Nucellus, *o* Ei, *s* Synergiden, *t* Pollenschlauch, *ii* inneres Integument, *ae* Adventiv-Embryonen.

wir Alkohol-Material und stellen uns die nötigen medianen Längsschnitte zwischen Daumen und Zeigefinger her. Die Synergiden wie das Ei sind sehr groß (Fig. 246 *A*). Nach unten spitzt sich der Embryosack zu, und wir finden in diesem Ende die 3 Gegenfüßlerinnen. Um den Scheitel des Embryosacks ist der Nucellus (*n*) nur eine Zellage stark. Haben wir die Samenanlagen dem Fruchtknoten einer älteren Blüte entnommen, so treffen wir in einzelnen auch wohl auf den Befruchtungsvorgang und sehen den relativ dicken Pollenschlauch in Berührung mit den Synergiden (Fig. 246 *B*). Wenden wir uns nunmehr zu älteren Entwicklungszuständen, die wir ebensogut an frischem wie an Alkohol-Material studieren können, so treten uns hier eigentümliche Verhältnisse entgegen. An medianen Längsschnitten von Samenanlagen aus etwa 10 mm hohen Fruchtanlagen (den Frucht-

[1]) S. u. a. A. Ernst, Bastardierung als Ursache der Apogamie im Pflanzenreich, Jena 1918, S. 433 ff. Dort eine Übersicht über die bisher bekannten Fälle echter Polyembryonie, bei denen alle Embryonen eines Samens in demselben Embryosack zur Entwicklung kommen, und die unechter Polyembryonie, bei denen die Embryonen zwei oder einer Mehrzahl von Embryosäcken angehören.

knoten allein gemessen) sehen wir die Zellen des Nucellus am Scheitel des Embryosacks angeschwollen (Fig. 246 *C*, *n*), mit Inhalt dicht angefüllt. Einzelne dieser Zellen haben sich zu teilen begonnen. Im Scheitel des Embryosacks ist meist das befruchtete, von einer Zellhaut umgebene Ei zu sehen. (Bei dem in Fig. 246 dargestellten Fall waren in dem befruchteten Ei 2 Zellkerne, der Spermakern und der Eikern, und nebenan der Rest einer Synergide vorhanden.) Gehen wir stufenweise zu älteren Samenanlagen über, so können wir feststellen, daß die Nucellarzellen durch fortgesetzte Teilung Gewebekörper bilden, die in das Lumen des Embryosacks vorspringen. Die vom Scheitel entfernteren Nucellarzellen, die an dem Vorgang nicht beteiligt sind, werden hingegen verdrängt, so daß die Nucellarhöcker jetzt ausschließlich dem inneren Integument angrenzen (Fig. 246 *D*). Es macht durchaus den Eindruck, als wenn diese Nucellarhöcker im Innern des Embryosackscheitels entstanden wären. Die Membran des Embryosacks, die sie vorstülpten, läßt sich an deren Oberfläche nicht mehr unterscheiden. Das befruchtete Ei ist entweder in weiterer Entwicklung begriffen (wie in Fig. 246 *D*), oder letztere unterbleibt. Nach einiger Zeit wird die aus dem Ei hervorgegangene Anlage jedenfalls verdrängt, während sich die Nucellarhöcker immer mehr in den Embryosack vorwölben. Ihre Zahl ist wechselnd, ihre Gestalt unbestimmt. Der Embryosack der Samenanlage nimmt rasch an Größe zu, während die Anlagen nur langsam wachsen, so daß wir sie auch in über 30 mm hohen Fruchtknoten relativ wenig vorgeschritten finden. Währenddessen hat das innere Integument seine Zellen mit rosenrotem Zellsaft erfüllt, und eine Schicht solcher Zellen liegt auch, die Insertionsstellen des inneren Integuments verbindend, unter dem Nucellus. Auf einem jeden medianen Längsschnitt durch solche Samenanlagen bringt man die Nucellarhöcker zur Ansicht. Bei etwas zu dick geratenen Schnitten kann man mit Kalilauge nachhelfen, wobei die rosenrote Färbung des Zellsaftes der erwähnten Zellen durch Blau in Grün übergeht. Das äußere Integument und die Raphe haben der schmalen Kante der Anlage entsprechend einen Flügel entwickelt. Die Anlage erscheint blaßrosa gefärbt infolge des Durchscheinens der rosenroten Schicht. Hierauf fangen die Samenanlagen an, ihren Embryosack mit Endosperm zu füllen. Die Samenschale beginnt sich zu bräunen. Die Nucellarhöcker entwickeln sich jetzt weiter und nehmen, allmählich größer werdend, den Bau typischer Liliaceen-Embryonen an. Öffnen wir einen reifen Samen, so können wir in dem Mikropylende des Endosperms eine Höhlung nachweisen, in der 2—6 Embryonen liegen[1]). Diese haben, wie schon erwähnt wurde, den typischen Bau von Embryonen, und nur weil sie sich gegenseitig in ihrer Entwicklung störten, zeigen sie mehr oder weniger unregelmäßige Gestalten und verschiedene Größe.

Die Keime des polyembryonischen Samens von Funkia sind somit nicht aus befruchteten Eiern, sondern aus Zellen des Nucellus entstanden; wir nennen solche aus dem Nucellargewebe durch innere Sprossung erzeugten keimähnlichen Gebilde Adventiv-Keime. Sie werden bei Funkia nur in befruchteten Samenanlagen gebildet und so auch in anderen auf dieses Verhalten geprüften Fällen; bei bestimmten Euphorbiaceen[2]), so der

---

[1]) Vgl. ältere Angaben hierüber bei A. BRAUN, Abh. Kgl. Akad. d. Wiss. zu Berlin, 1859, S. 146.

[2]) Vgl. A. BRAUN, l. c. 1856, S. 318, ferner u. a. F. HEGELMAIER, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXI, 1903, S. 6.

neuholländischen, bei uns ausschließlich in weiblichen Exemplaren kultivierten Caelebogyne ilicifolia, ferner bei einigen Calycanthaceen[1]) ist diese Adventiv-Keimbildung auch ohne Befruchtung möglich. Es liegt aber auch hierbei nicht ein Fall von jungfräulicher Zeugung oder Parthenogenesis, sondern von Apogamie vor. Apogamie[2]) heißt Verlust des Geschlechts und ist beispielsweise auch bei Farnkräutern beobachtet worden, wo gewisse, z. T. erst in der Kultur entstandene Arten an ihren Prothallien keine weiblichen Geschlechtsorgane mehr hervorbringen, vielmehr durch Sprossung aus vegetativen Zellen des Prothalliumpolsters die zweite Generation, die eigentliche Farnpflanze, erzeugen[3]). Auch die Keimbildung aus unbefruchteten Eiern, welche aber die für vegetative Kerne charakteristische doppelte Chromosomenzahl (vgl. den XXXII. Abschn.) aufweisen, ist unter den Begriff Apogamie eingereiht worden[4]). Derartige Fälle sind im Lauf der letzten Jahre für Vertreter zahlreicher Pflanzenfamilien, wie Kompositen, Ranunculaceen, Rosifloren, Thymelaeaceen, Urticaceen, auch Marsiliaceen (S. 571) und Characeen bekannt geworden[5]). HANS WINKLER, dem man heute in der Verwendung dieser Begriffe meist folgt, bezeichnet sie als somatische Parthenogenesis im Gegensatz zu der echten, von ihm als generative benannten[6]), d. h. der Weiterentwicklung von unbefruchteten, in ihren Kernen die um die Hälfte reduzierte Chromosomenzahl führenden Geschlechtszellen, die im Pflanzenreich bisher nur in den untersten Abteilungen, vornehmlich bei den Algen, festgestellt worden ist[7]).

In fast allen bei Angiospermen bekannten Fällen von Polyembryonie ist Adventivkeimbildung vorhanden; so könnten wir unschwer auch bei Nothoscordum fragrans, einer Knoblauch-Art, die Sprossung der Adventivkeime aus einem dem Scheitel des Nucellus zugehörigen Gewebepolster verfolgen. Bei den Citrus-Arten würden wir unter ähnlichen Verhältnissen die Anlagen der Adventivkeime selbst in größerer Entfernung von dem Embryosackscheitel an den Seiten des Embryosacks antreffen.

[1]) J. PETER, COHNS Beitr. z. Biol. d. Pfl., Bd. XIV, 1. H. 1920, S. 59 ff.

[2]) A. DE BARY, Bot. Ztg., XXXVI. Jahrg., 1878, Sp. 479.

[3]) Vgl. W. FARLOW, Bot. Ztg., XXXII. Jahrg., 1874, Sp. 180, und A. DE BARY, l. c. 1878, Sp. 449. Ferner von neueren Arbeiten E. STRASBURGER, Flora, Bd. XCVII, 1907, S. 123 und J. B. FARMER, J. E. MOORE, L. DIGBY, Proc. Roy. Soc., London, Bd. LXX, 1903, S. 453, und Bd. LXXVI, 1905, S. 463, ferner Ann. of Bot., Bd. XXI, 1907, S. 161; A. G. STOCKEY, Bot. Gaz., Bd. LXV, 1918, S. 97. S. a. die Literaturangaben bei A. ERNST, l. c., 1918.

[4]) Bes. von E. STRASBURGER, Flora, Bd. XCVII, 1907, S. 123 ff.

[5]) Vgl. E. STRASBURGER, l. c., 1907; ferner bes. HANS WINKLER, Progress. rei bot., Bd. II, 1908, S. 293 ff. und, Derselbe, Verbreitung und Ursache der Parthenogenesis im Pflanzen- und Tierreiche, Jena 1920. Dazu noch A. ERNST, l. c. 1918.

[6]) HANS WINKLER, l. c. 1908 und 1920. Als Apogamie bezeichnet WINKLER die Entstehung eines Sporophyten aus vegetativen Zellen des Gametophyten, wobei er ebenfalls zwischen somatischer und generativer Apogamie unterscheidet, je nachdem die Ausgangszelle oder die Ausgangszellen die nichtreduzierte oder die reduzierte Chromosomenzahl in ihren Kernen führen. Dort WINKLERS Stellungnahme zu A. ERNST, l. c. 1918, der in der Parthenogenesis „die autonome oder durch äußere Einflüsse induzierte apomiktische Entwicklung von Gameten (insbes. von Eizellen) einer sexuell differenzierten und sexuell funktionsfähigen Pflanzen- oder Tierart“ sieht, während er Apogamie als „obligat apomiktische Keimbildung aus Zellen di- oder heteroploider Gametophyten“ definiert, wobei der apomiktische Keim entweder aus der Eizelle oder aus einer, auch mehreren somatischen Zellen des Gametophyten seinen Ursprung nimmt.

[7]) A. DE BARY, Bot. Ztg., XXXIII. Jahrg., 1875, Sp. 379; vgl. im übr. S. 483, 487, 571 dieses Prakt.

Andererseits ist bei Iris sibirica[1]) und Lilium Martagon[2]) Embryobildung aus den Synergiden beobachtet worden, ein Vorgang, der somit auch zu Polyembryonie führen könnte; endlich wird für Allium odorum auch Keimbildung aus einer Antipode, somit die Bildung eines Antipoden-Embryos[3]) und, wie bei Citrus, die Bildung von sog. wandständigen Embryonen angegeben, die meist in einiger Entfernung vom Eiapparat an der Innenwand des Embryosacks als Adventivbildungen entstehen[4]). — Die im Scheitel des Embryosacks von Euphorbia dulcis sich vorfindenden Keime sind teils nucellare Aussprossungen, teils entstammen sie Zellen des Eiapparats[5]).

[1]) A. Dodel, Festschr. f. Nägeli u. Koellicker, Zürich 1891.
[2]) E. Overton, Ebenda.
[3]) S. Tretjakow, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XIII, 1895, S. 15.
[4]) F. Hegelmaier, Bot. Ztg., LV. Jahrg., 1. Abt., 1897, S. 133.
[5]) F. Hegelmaier, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XIX, 1901, S. 488.

XXXI. Abschnitt.

Die Frucht der Angiospermen. Bau der Fruchtwand und des Samens.

Herstellung von Dünnschliffen. Entwicklungsgeschichte der Frucht. Pflanzenschleim-Reaktionen, -Härtung, -Färbung.

Untersuchungsmaterial.

Reife Pflaume oder reife Kirsche. Reifer Apfel. Reife Orange.

Orangenfrüchte in allen Entwicklungszuständen. Salvia Horminum, reife Früchte. Linum usitatissimum, reife Früchte.

Die Strukturverhältnisse einiger, sehr einfach gebauter Fruchtgehäuse haben bereits Berücksichtigung gefunden, kompliziertere Fälle sollen nunmehr betrachtet werden.

Eine reife Pflaume (Prunus domestica) ist mit einem zarten Wachsüberzug bedeckt, der bei Oberflächenansichten der Epidermis als feinkörniger Überzug erscheint. Dasselbe Präparat zeigt uns die Epidermis der Pflaume aus Zellen gebildet, die, zu Gruppen vereinigt, deutlich ihren Ursprung aus gemeinsamen Mutterzellen erkennen lassen. Diese Zellen führen rosenroten Zellsaft. Wie zarte Querschnitte lehren, folgen auf die Epidermis nach innen einige Schichten rasch an Größe zunehmender Zellen, die weiterhin gleich groß bleiben. Diese Zellen sind gegeneinander abgerundet, bilden trotzdem nur kleine Interzellularräume. Sie enthalten wenige, sehr kleine, gelblichgrüne Chlorophyllkörner, einen dünnen Wandbeleg aus Zytoplasma, einen Kern, sonst farblosen Zellsaft. Durchsetzt wird dieses parenchymatische Gewebe von zahlreichen Leitbündelzweigen. Gegen den Stein hin wird das parenchymatische Gewebe kleinzelliger, dabei radial gestreckt. Der Stein selbst, der, um das Rasiermesser nicht auszubrechen, äußerst vorsichtig an vorher mit einem starken Taschenmesser glatt hergestellten Flächen zu schneiden ist, besteht aus sehr stark verdickten und verholzten Elementen, deren Wände von zierlichen, verzweigten Kanälen durchsetzt sind. Dieser Stein stellt in mechanischer Beziehung ein aus Steinzellen aufgebautes Gewölbe dar und weist eine dementsprechend hohe Druckfestigkeit auf. Die Entwicklungsgeschichte lehrt[1]), daß auch die Steinschale zur Fruchtwand, dem Perikarp, gehört, und daß die Epidermis der Pflaume, das Epikarp, aus der Epidermis des Fruchtknotens, das Fruchtfleisch, Mesokarp[2]), aus den an die Epidermis anschließenden äußeren, die Steinwand, Endokarp, aus den inneren Gewebe-

[1]) Vgl. u. a. K. VÉRTES, Dissert., Bern, 1913, S. 64 ff.

[2]) Epikarp + Mesokarp können auch als Exokarp bezeichnet werden.

teilen des Fruchtknotens hervorgeht. Das ganze Gewebe der Pflaume, samt der Steinwand, findet somit in der Fruchtknotenwand seinen Ursprung. — Von der Steinwand umgeben liegt der Samen[1]), der aus dem Keim, aus der zarten Samenhaut und aus Resten des zwischen dem Keim und der Samenhaut erhalten gebliebenen Endosperms besteht. Durchschneiden wir ihn quer, so können wir leicht die beiden einander flach anliegenden Keimblätter unterscheiden. Ein medianer Längsschnitt zeigt uns das Stämmchen des Keims, das mit seinem Wurzelende in das zugespitzte Mikropylende des Samens hineinragt, und zwischen den beiden Keimblättern das Knöspchen, die Plumula. Der Keim hat während seiner Größenzunahme das Gewebe der Samenanlage, an der seitlich von der Mikropyle noch der verdorrte Funiculus kammartig vorspringt, größtenteils verdrängt. Zarte Querschnitte durch den Samen zeigen uns die dünne Testa aus kollabierten Zellschichten gebildet. Auf der Außenseite ist sie mit rundlichen, einzeln oder zu mehreren stehenden, entweder nur auf der nach außen vorgewölbten Seite, oder doch vorwiegend an dieser, verdickten Zellen besetzt. Flächenansichten der Testa lehren uns, daß die verdickten, vorspringenden Elemente einzelne, bzw. Gruppen von Epidermiszellen der Testa sind. Diese haben sich verdickt, während ihre Nachbarinnen unverdickt blieben und kollabierten. Die nach den Seitenwänden hin mündenden Tüpfel geben diesen Zellen ein zierliches Aussehen. Wo zwei verdickte Zellen sich berühren, treffen ihre Tüpfel aufeinander. Auf die Epidermis der Testa folgt eine aus abgeflachten, unregelmäßig verdickten Zellen bestehende Schicht. An den beiden breiten Seiten des Keims ist eine mehrschichtige Endospermlage vorhanden, die den Keim von der Testa trennt. An den schmalen Seiten des Keims wird diese Lage auf eine einzige Zellschicht beschränkt. — Zwei Samenanlagen sind in dem Fruchtknoten vorhanden, doch nur eine entwickelt sich zum Samen weiter.

Selbst relativ sehr harte Frucht- und Samenschalen lassen sich mit dem Rasiermesser schneiden, wenn man, was fast immer genügt, sich auf sehr kleine Schnitte beschränkt. Verträgt es das Objekt, so lege man es für längere Zeit in Wasser, wodurch es meist schnittfähiger wird. Bei ganz besonders harten Elementen muß man zu Dünnschliffen seine Zuflucht nehmen. Mit einer feinen Laubsäge schneidet man zuerst eine Lamelle aus dem Objekt heraus und kittet sie mit Kanadabalsam, den man durch Erwärmen flüssig machte, einer dicken Glasplatte auf. Hierauf schleift man, am besten auf einem drehbaren Schleifstein, die freie Fläche der Lamelle an. Dabei ist zu beachten, daß sich das Präparat nicht zu sehr erwärmt, was ein Weichwerden des Balsams und ein Ablösen des Präparats zur Folge haben würde. Ist die Operation entsprechend weit gediehen, so wird das Schleifen auf einem harten, sehr feinkörnigen, nassen Abziehstein fortgesetzt, auf dem die Fläche des Präparats die nötige Glätte erhält, worauf man sie noch auf einem weichen Lederriemen, der mit Tripel eingerieben ist, poliert. Man kontrolliert unter dem Mikroskop den Erfolg der Arbeit, und wenn der nötige Grad von Politur erreicht ist, löst man die Lamelle von der Glasplatte ab, indem man letztere in Alkohol oder Äther einlegt, und kittet dann die Lamelle wieder, diesmal mit der glatten Seite,

[1]) Vgl. auch J. GODFRIN, Études histol. s. l. tégum. sém., 1880, S. 39.

einem Objektträger auf. Jetzt ist besonders darauf zu achten, daß nur geringe Mengen Kanadabalsam verwendet werden, damit er nicht seitlich über das Präparat hervorrage und namentlich bei der Politur den Lederriemen nicht verunreinige. Die zweite Fläche der Lamelle wird ebenso wie zuvor die erste behandelt, wobei das Schleifen so lange fortgesetzt wird, bis das Präparat die nötige Dünne erhalten hat. Damit diese gleichmäßig ausfalle, kann man um das Präparat herum Fragmente entsprechend dünner Deckgläser dem Objektträger aufkitten. Objekte, die während des Schleifens zerbröckeln oder in einzelnen Teilen sehr verschiedene Konsistenz zeigen, müssen zuvor mit Kanadabalsam oder Kopal imprägniert werden. Man wendet hierzu dünne Lösungen von Kanadabalsam oder Kopal in Chloroform an, legt die mit der Laubsäge ausgeführten Schnitte in die Lösung und läßt letztere an der Luft oder im Trockenapparat sich verdicken. Hat die Lösung Sirupdicke erlangt, so nimmt man die Schnitte heraus, kittet sie, nachdem sie trocken geworden, in der früher geschilderten Weise einer Glasplatte auf und schleift sie dann. — Bei sehr brüchigen Gegenständen wird die Imprägnation des Objekts noch vor dem Schneiden mit der Säge notwendig. — Besonders kleine Gegenstände hat man auch in ein Gemisch von etwa 10 T. Kolophonium und 1 T. gewöhnl. Wachs eingeschmolzen[1]). Das Gemisch ist durchsichtig und nicht spröde. Das Schleifen läßt sich auch auf einer mit feuchtem Schmirgel bedeckten Glasplatte bewerkstelligen, und zwar geht man alsdann allmählich von gröberen Schmirgelsorten zu ganz feinen über, indem man bei jedem Wechsel Objekt und Glasplatte sehr sorgfältig reinigt. Das Polieren erfolgt mit Polierschmirgel, dann am Schluß auf einem reinen, mäßig feucht gehaltenen lithographischen Schiefer. Wie bei der zunächst besprochenen Methode wird auch jetzt die völlig glatte, sorgfältig gereinigte und trockene Schnittfläche des Objekts auf den Objektträger, den man zuvor erwärmt, festgekittet; dann werden die Manipulationen an der anderen Seite wiederholt. Der fertige Schliff wird gesäubert und getrocknet, mit Terpentin ausgewaschen und mit diesem angefeuchtet, einige Zeit unter einer Glasglocke gelassen. Den letzten Rest des Einschmelzmittels entfernt man am besten mit Chloroform. Der Einschluß erfolgt für alle Fälle am besten in Kanadabalsam. — Gegen die Anwendung von Schmirgel beim Schleifen ist eingewendet worden, daß dieser oft in das Präparat eindringe. Daher wird von anderer Seite vorgezogen, die Präparate durch Feilen und durch Schleifen auf sehr feinkörnigen Quarzsandsteinen (Mississippistein, Arcansasstein, gewissen belgischen und englischen Steinen) in trockenem Zustand herzustellen[2]). Zur Gewinnung einer ebenen Fläche wird zunächst eine gewöhnliche flache Feile (2 cm breit, Furchenbreite $^4/_6$ mm) benutzt, die Fläche dann mit feineren Feilen ($2-2^1/_2$ cm breit, Furchenbreite $^4/_{10}$ und $^4/_{15}$ mm) und endlich mit einer ganz feinen Vautierfeile (flach $2^1/_2$ cm breit, Furchenbreite $^4/_{21}$ mm) ganz glatt gemacht. Nun spaltet man mit einem Skalpell oder schneidet mit einer sehr feinen Laubsäge ein $^1/_2$ bis 1 mm dickes Plättchen an der glatt gefeilten Seite herab. Dann gibt man auf den Objektträger einen Tropfen auf dem Wasserbad erwärmten Kanadabalsam, legt auf diesen das Plättchen mit der gefeilten Seite nach unten und erwärmt den Objektträger auf dem Drahtnetz, bis der Kanadabalsam ganz dünnflüssig geworden ist. Dann drückt man das Plättchen etwas an,

---

[1]) Vgl. E. Ehrenbaum, Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., Bd. I, 1884, S. 415.

[2]) F. v. Höhnel, Ebenda, 1884, S. 234.

bringt den Objektträger auf eine ebene, kalte Metallplatte, legt ein kleines Fließpapierblättchen auf das Objekt und preßt dieses nun mit einem weichen Kork sehr fest an den Objektträger, bis der Kanadabalsam ganz erkaltet ist. Nunmehr wird das Fließpapier und der seitlich vorgetretene und auf den Schnitt gelangte Kanadabalsam sorgfältig entfernt. Man legt den Objektträger auf die flache Hand und feilt zunächst mit der $^4/_6$ Feile den Schnitt solange, bis er gleichmäßig durchscheinend ist. Der Schnitt wird hierauf mit der $^4/_{10}$, $^4/_{15}$ und $^4/_{24}$ Feile der Reihe nach ganz glatt und glänzend gemacht. Schließlich schleift man ihn noch trocken kurze Zeit auf dem Mississippi- oder Arcansasstein. Von Zeit zu Zeit muß der Stein mit einem in Alkohol getauchten Tuch vom anhaftenden Harz befreit werden. Sind alle diese Operationen beendet, so reinigt man den Objektträger und den Rand des Schnittes mit dem in Alkohol getauchten Tuch, gibt etwas Kanadabalsam auf den Schliff und erwärmt ihn, wie auch ein Deckglas, stark auf dem Drahtnetz. Das Deckglas wird hierauf auf den Schnitt gelegt, mit dem Finger, dann etwas fester mit einem Kork angedrückt. Etwaige Luft vertreibt man aus solchen Präparaten durch öfteres Erwärmen. Die Schliffe können auch von Kanadabalsam befreit und in Glyzerin aufbewahrt werden. Alle diese Operationen lassen sich sehr rasch ausführen, so daß sich 2 Präparate in der Stunde herstellen lassen. — Im wesentlichen ebenso, wie die harten Teile lebender Pflanzen, können fossile Pflanzenteile, die man der mikroskopischen Beobachtung zugänglich machen will, behandelt werden. Das Zuschneiden der Präparate ist dann aber durch besondere Schneidemaschinen, die beispielsweise von *Voigt* und *Hochgesang* in Göttingen geliefert werden, zu besorgen. In vielen Fällen dürfte es sich empfehlen, die fossilen Pflanzen, mit genauer Angabe der Richtungen, in mechanischen Werkstätten, etwa denen von *Voigt* und *Hochgesang* in Göttingen, oder *R. Fueß* in Berlin-Steglitz, oder von *F. Krantz*, Rheinisches Mineralien-Kontor in Bonn, schleifen zu lassen[1]).

Die für die Pflaume gegebene Schilderung paßt, von unbedeutenden Differenzen abgesehen, auch auf die Kirsche (Prunus avium oder P. Cerasus), die somit an Stelle der Pflaume untersucht werden kann.

Wir wollen uns auch mit dem mikroskopischen Bau eines Apfels bekannt machen. Der Apfel (Pirus malus) gehört wie die Pflaume und Kirsche zu den saftigen Schließfrüchten; während aber eine Pflaume oder Kirsche aus einem oberständigen, einfächerigen, von einem einzigen Fruchtblatt gebildeten Fruchtknoten entsteht, ist der Apfel aus einem unterständigen, fünffächerigen, aus fünf Fruchtblättern gebildeten Fruchtknoten hervorgegangen[2]). Im Hinblick auf die Verhältnisse, wie sie die nahe verwandten Rosen bieten, kann man auch annehmen, daß der fünffächerige Fruchtknoten hier in einem ausgehöhlten Stengelteil, ein sog. Hypanthium[3]), eingesenkt und mit diesem verwachsen sei, eine Auffassung, die sich aber nur phylogenetisch begründen ließe. Der Apfel wird an seinem Scheitel

---

[1]) Über weitere hierhin gehörige Methoden vgl. A. LAUBY, Soc. bot. France Mém. IL, 1910. S. a. Reg. IV Pflanzenreste.

[2]) Näheres bei A. OSTERWALDER, Landwirtsch. Jahrb., Bd. XXXIX, 1910, S. 917, 980.

[3]) Vgl. a. A. HILLMANN, Beih. z. bot. Zentralbl. Bd. XXVI, 1. Abt., 1910, S. 377.

von dem mehr oder weniger vollständig abgestorbenen fünf Kelchblättern, auch den verdorrten Resten der übrigen Blütenteile gekrönt. Flächenansichten zeigen die Epidermis des Apfels aus relativ kleinen, polygonalen Zellen gebildet, aus deren Gruppierung ihre Entwicklungsfolge noch zu erkennen ist. Die Wände der Zellen sind ziemlich stark verdickt, ihr Zellsaft entweder farblos oder rosa gefärbt. Die Oberfläche der Epidermis ist mit einem feinkörnigen Wachsüberzug bedeckt. Die Mitte der kleinen Höcker, die an der Oberfläche des Apfels mit der Lupe leicht zu sehen sind, wird von einer Spaltöffnung eingenommen. Öfters ist das Gewebe unter einer solchen Spaltöffnung abgestorben, evtl. ist an solcher Stelle dann auch die Epidermis aufgerissen und die Wunde mit Kork abgeschlossen. Wie feine Querschnitte lehren, ist die Epidermis an der Außenseite stark verdickt. Unter ihr liegen mehrere Schichten tangential gestreckter, ziemlich dickwandiger Zellen, die allmählich nach innen zu größer und dünnwandiger, zugleich chlorophyllhaltig werden. Eine scharfe Grenze zwischen Epikarp und Mesokarp besteht somit nicht. Die Chlorophyllkörner sind dicht mit Stärke erfüllt; ihre Farbe schwindet nach dem Innern des Apfels zu, sie werden zugleich weniger zahlreich. Endlich führen in einer gewissen Tiefe die großen, blasenförmig angeschwollenen Zellen des Mesokarps außer dem zarten, plasmatischen Wandbeleg und dem Kern vornehmlich nur farblosen Zellsaft. Die Interzellularräume füllen sich dort mit Luft. Durch das Gewebe sind Leitbündel verteilt. Von ihnen erscheinen in der Regel zehn besonders stark ausgebildet; diese geben schwächere Seitenäste ab[1]). Die fünf „Kerngehäuse" werden von einer glatten, harten Haut, dem Endokarp, ausgekleidet. Sie besteht aus mehreren Lagen bis zum Schwinden des Lumens verdickter Sklerenchymfasern, deren Verdickungsschichten sich von feinen Poren durchsetzt zeigen. Flächenschnitte (Fig. 247) lehren, daß diese Sklerenchymfasern unregelmäßig schrägen, oft verbogenen, in den verschiedenen Schichten entgegengesetzt geneigten Verlauf haben. Die fünf Fächer treten oft in der Mitte auseinander, einen zentralen Gang bildend, nach dem zu sich dann die einzelnen Fächer meist öffnen. Im Grund eines jeden Faches entspringen zwei Samenanlagen, die entweder beide Samen liefern, oder von denen nur eine Anlage sich weiter entwickelt,



Fig. 247. Apfel. Sklerenchymfasern des Endokarps. Vergr. 220.

[1]) D. Mac Alpine, Linn. Soc., N. S. Wales, Abstr. Proc. IV, 1911. S. a. A. Osterwalder, l. c. 1910, S. 983.

oder die auch beide fehlschlagen. — Der Samen ist von dem Keim fast erfüllt und von einer dicken, braunen Testa umgeben. Letztere zeigt an den Querschnitten eine Epidermis, deren Zellen, nach außen stark verdickt, in den äußeren Schichten farblos und stark quellbar, in den inneren bräunlich gefärbt und nicht quellbar sind. An den in Wasser liegenden Schnitten durchbrechen die quellbaren Schichten, an Volumen zunehmend, schließlich die Kutikula und wölben sich papillenartig nach außen vor. Durch sie wird der feuchte Samen schlüpfrig. Das unter der Epidermis gelegene, starke Gewebe zeigt sich im Querschnitt aus polygonalen, an den Ecken abgerundeten, ziemlich stark verdickten und gebräunten Zellen gebildet, auf die eine etwa dreimal schwächere Schicht aus tangential gestreckten, ebenfalls gebräunten, doch weniger stark verdickten Zellen folgt. Diese grenzen an eine glänzend weiße, dicke Haut. Letztere geht aus den stark verdickten Außenwänden der äußersten Nucellarschicht, die ganze übrige Testa aus dem äußeren Integument der Samenanlage hervor. Das innere Integument der Samenanlage besteht nur noch aus einer plattgedrückten Zellschicht, die zahlreiche Stärkekörner führt. Auch die Nucellarzellen, deren äußere verdickte Schicht eigentlich nicht mehr zur Testa gehört, sind meist kollabiert, ebenso die übrigen noch vorhandenen Zellen des Nucellus. Auf diese kollabierten Gewebelagen folgen einige dünne Schichten Endosperm, die sehr viel Klebermehl führen, und denen sich nach innen eine größere Zahl zusammengedrückter Endospermzellen anschließt, welche die direkte Umhüllung des Embryos bilden. — Wie entsprechende Flächenschnitte lehren, besteht die Epidermis der Seitenflächen des Samens aus langgestreckten, die der Chalaza- und Mikropylar-Gegend aus kürzer gebauten Zellen, deren innere Verdickungsschichten porös sind. Das an die Epidermis grenzende Gewebe, das uns im Querschnitt isodiametrisch erscheint, zeigt sich jetzt in longitudinaler Richtung gestreckt und mit schräg aufsteigenden, spaltenförmigen Tüpfeln versehen. Die tangential gestreckten, inneren Elemente der Testa sind zu den vorhergehenden rechtwinklig orientiert[1]).

Der Querschnitt durch eine reife Orange (Citrus vulgaris) zeigt außen den als Schale bezeichneten Teil und im Innern die mit orangerot gefärbtem Fruchtfleisch erfüllten Fächer, deren Zahl unbestimmt ist und zwischen 6 und 12 schwankt. Die Fächer sind seitlich durch dünne Scheidewände getrennt, die in einer mittleren Gewebesäule zusammenstoßen. Will man die übliche Bezeichnung der Fruchtteile auf den hier vorliegenden Bau anwenden, so könnte die äußere Schale als Epikarp, das orangerote Fruchtfleisch als Mesokarp, die innere Gewebesäule und die Scheidewände als Endokarp gelten. — Wir gehen nunmehr zu der mikroskopischen Untersuchung der einzelnen Teile über. Auf zarten Querschnitten durch die Schale sehen wir zu äußerst eine kleinzellige Epidermis, auf die ein nach innen zu allmählich großzelliger werdendes Gewebe folgt. Die Epidermis, wie das nächst angrenzende Gewebe, führen orangerote Chromatophoren, die sich weiter nach innen zu verlieren. Hier treten auch zwischen den Zellen mit Luft erfüllte Interzellularräume auf,

[1]) Zur Entwicklungsgeschichte der Apfelfrucht und ihrer Samen vgl. a. K. Vértes, l. c. 1913, S. 50 ff.

die allmählich immer größer werden, wobei das Gewebe den Charakter eines lockeren Schwammparenchyms annimmt, dessen Elemente in tangentialer Richtung gedehnt sind. Die Schale ist von Leitbündeln durchzogen, die der Querschnitt vornehmlich in ihrem Längsverlauf bloßlegt und die sich nach der Peripherie zu verzweigen. An die Epidermis stoßen die großen, dem bloßen Auge ohne weiteres sichtbaren Behälter von ätherischem Öl. Sie zeigen den uns von Ruta her (S. 323, 324) bekannten Bau und lassen die innere Auskleidung mit zarten Zellen leicht unterscheiden. — Die Frucht, makroskopisch von außen her betrachtet, weist die Ölbehälter als dunklere Punkte, das sie trennende Gewebe als helleres Netzwerk auf. Ein zarter Flächenschnitt der Außenseite führt uns zunächst die kleinen polygonalen Epidermiszellen vor. Die über den Ölbehältern gelegenen zeichnen sich durch Fehlen der orangeroten Chromatophoren aus; sie führen an deren Stelle farblose, verschieden große Kügelchen. Eingestreut sind der Epidermis plasmaleere, nach innen zu geschlossene Spaltöffnungen. Nächst tiefere Schnitte geben instruktive Ansichten der Ölbehälter und der Leitbündelendigungen zwischen ihnen. Noch tiefere Schnitte endlich zeigen das schwammartige, aus schlauchförmig gedehnten Zellen gebildete Gewebe. Im Anschluß an die Fächer werden die Zellen der Schale noch länger, faserförmig, z. T. stärker verdickt und dann mit schmalen, schräg aufsteigenden Tüpfeln versehen. So sind auch die Scheidewände zwischen den Fächern gebaut: Im Innern aus schwammartigem, nach außen aus faserförmigem, z. T. stark verdicktem Gewebe. Die schwammartigen, an der Außenseite der Fächer sowie im Innern der Scheidewände befindlichen Elemente treten sehr leicht aus dem Verband. Die faserförmigen Elemente zeigen sich hingegen ziemlich fest miteinander verbunden. Sie lassen sich am besten an Flächenansichten studieren. Man trennt zunächst in der üblichen Weise den Inhalt der Fächer voneinander; hierbei reißt das die Fächer umgebende Schwammgewebe, die Faserschicht bleibt aber als zarte, weiße Hülle um das Fruchtfleisch erhalten. Breitet man nun eine solche Hülle aus und betrachtet sie bei starker Vergrößerung, so sieht man sie aus mehreren Schichten parallel zur Oberfläche des Faches

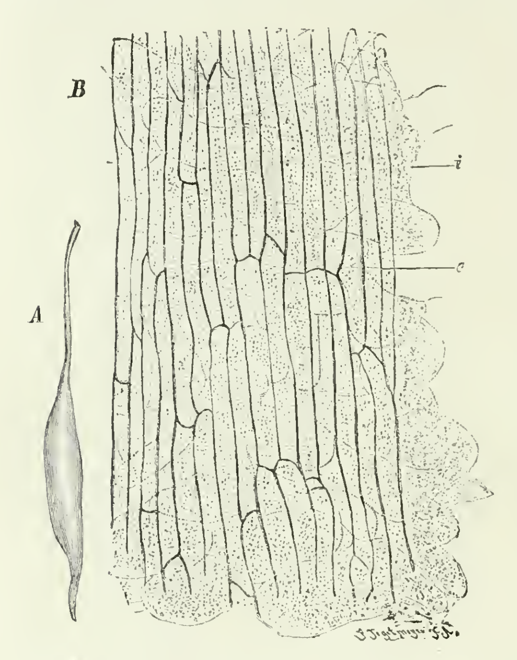


Fig. 248. Fruchtfleisch der Orange. *A* keulenförmiger Schlauch, 2 mal vergrößert; *B*, *e* Oberfläche eines solchen Schlauches, *i* sein inneres Gewebe, 110 mal vergrößert.

und quer zu dessen Längsachse verlaufender Fasern aufgebaut. Zwischen unverdickten Fasern sind gleichgestaltete, verdickte und getüpfelte eingestreut. — Das Fruchtfleisch besteht aus keulenförmigen Schläuchen (Fig. 248 *A*), von denen sich schon makroskopisch leicht nachweisen läßt, daß sie alle der Außenseite des Faches entspringen. Sie sind mit schmaler Basis dort inseriert und füllen, zwischeneinander gedrängt, das Fach aus. Sie werden um so länger, je tiefer sie in das Fach reichen; ihr Verlauf ist ein radialer, quer zur Längsachse des Faches gerichteter. Jede einzelne dieser Keulen zeigt sich an ihrer Oberfläche von einer Schicht fest verbundener, gestreckter Zellen umgeben. Ihr Inneres ist aber erfüllt von sehr großen, polygonalen, zartwandigen, saftreichen Zellen (*B*, *i*), die spindelförmige, sehr schmale, orangerot gefärbte Chromatophoren führen. — Die zentrale Gewebesäule, in der die Scheidewände zusammenstoßen, wird von demselben Schwammparenchym wie die inneren Teile der Schale gebildet. — Beim „Teilen" einer Orange befreit man, wie wir sahen, den Inhalt der Fächer mitsamt der umkleidenden Faserschicht, die sich leicht von dem Schwammparenchym trennt. Diese Faserschicht kann man nun weiter sehr leicht von den Seiten jedes Abschnitts, schwieriger von dessen Außenfläche ablösen, weil dort die Schläuche des Fruchtfleisches mit der Faserschicht verbunden sind. — In dem Fruchtfleisch liegen in unbestimmter Anzahl die Samen eingebettet. Sie nehmen die innere Kante der Abschnitte ein, ihre Insertionsstelle nach innen kehrend. Beim Isolieren der Abschnitte reißen die Samen von der Placenta ab; meist bleiben übrigens auch Teile der inneren Gewebesäule samt Placenten an der inneren Kante der Abschnitte haften.

Da die Orangenbäume unserer Gärten leicht das erwünschte Material an Früchten und zwar gleichzeitig in allen Stadien der Reife liefern, so wollen wir auch versuchen, die Entwicklungsgeschichte dieser Früchte uns in den wichtigsten Zuständen vorzuführen. Der Querschnitt durch einen der Blüte entnommenen Fruchtknoten zeigt bereits eine ziemlich dicke Wandung, die in ihrer Peripherie Ölbehälter führt, und eine stark entwickelte Mittelsäule, während die Fächer relativ klein erscheinen. Die Samenanlagen sind den inneren Winkeln der Fächer in 2 Reihen angeheftet und mit ihrer Längsachse radial nach außen gerichtet. Die Fächer sind mit Epidermis ausgekleidet, an welche 2 – 3 Schichten eines zwischenraumlosen Gewebes grenzen, während weiterhin das Gewebe lufthaltige Interzellularen enthält. Aus der äußeren Fläche jedes Faches ragen bereits kleine Höcker in dieses hinein; an ihrer Bildung beteiligt sich die innere Epidermis und die nächstfolgende Zellschicht. Der Querschnitt durch eine kleine Fruchtanlage von etwa 5 mm Durchmesser zeigt an Stelle der kleinen Höcker zylindrische, kleinzellige Emergenzen, die bis zu verschiedener Tiefe in das Fach reichen und sich bereits zwischen den Samenanlagen einzudrängen beginnen. Ihre Epidermis setzt sich in jene des Faches fort, während ihre inneren Zellen in das hypodermale, das Fach umgebende Gewebe übergehen. Einzelne Emergenzen sind auf einer früheren Stufe der Entwicklung stehengeblieben und die Zellen ihrer Oberfläche papillenartig ausgewachsen. Je älter nun die untersuchten Fruchtanlagen sind, um so länger sind die Schläuche, welche die sich vergrößernden Fächer ausfüllen. Die Fächer bleiben aber zunächst immer noch sehr klein im Verhältnis zu der stark in die Dicke wachsenden Schale, in deren

Peripherie die Zahl der Ölbehälter sich entsprechend vermehrt. Die Fruchtschläuche beginnen weiterhin in ihrem oberen Teil keulenförmig anzuschwellen, ihre Epidermis sich in der Längsrichtung des Schlauches zu strecken, während die inneren Zellen im Schlauch durch fortgesetzte Querteilung isodiametrisch bleiben. Auch ein stark lichtbrechender, gelblicher Inhalt zeichnet die inneren Zellen des Schlauches von deren Epidermis aus. Eine bedeutende Streckung parallel zur Oberfläche des Faches erfahren auch die das Fach umkleidende Epidermis und die an letztere grenzenden Schichten, die sich frühzeitig durch den Mangel an Interzellularräumen auszeichnen. Dies alles ist an einer Fruchtanlage von 15—20 mm bereits gegeben und hiermit der Gang der Entwicklung in seinen wesentlichen Momenten schon aufgeklärt; denn die Schläuche brauchen nur noch weiter zu wachsen und sich zu differenzieren, um den uns aus der reifen Frucht bekannten Zustand zu erreichen. Aus der Epidermis des Faches und der angrenzenden Gewebe geht aber die die Fruchtabschnitte umgebende Faserschicht hervor; das jetzt schon lufthaltige Gewebe der Mittelsäule und der Fruchtschale liefert das Schwammparenchym; in der Peripherie der Fruchtschale sind neue Ölbehälter in fortgesetzter Anlage begriffen, und die jetzt chlorophyllhaltigen Schichten sind es, welche späterhin die orangeroten Chromatophoren enthalten.

Ganz eigenartige Strukturverhältnisse bietet uns die Fruchtschale bei einigen Labiaten. Das geeignetste Untersuchungsobjekt dürfte hier das Scharlachkraut, Salvia Horminum, sein[1]), eine Pflanze, die in allen botanischen Gärten zu finden ist. Öffnen wir den persistenten Kelch, der die Frucht schützt, so finden wir an dessen Grund die vier, im reifen Zustand dunkelbraun gefärbten, aufrechten, verkehrt eiförmigen, etwas abgeflachten, nußartigen Teilfrüchte oder Merikarpien, auch „Klausen“ genannt. Sie entstehen bei Boraginaceen und Labiaten aus einem der Anlage nach zweifächerigen, durch falsche Scheidewände frühzeitig vierkammerig gewordenen Fruchtknoten, dessen Kammern an ihrem Scheitel frei auswachsen und schließlich ganz unabhängig voneinander werden. — Wir stellen uns zunächst einen, wenn auch noch so kleinen Schnitt von der Oberfläche der Teilfrucht her und untersuchen ihn in Alkohol. Wir finden diese Oberfläche gebildet von im Grundriß regelmäßig polygonalen, fünf- bis siebeneckigen Zellen, die bis zum Schwinden des Lumens verdickt sind. Lassen wir nun vorsichtig Wasser zum Präparat hinzutreten, so zeigt sich uns ein merkwürdiges Schauspiel. Wir sehen zunächst die Grenzen der Zellen sich scharf zeichnen und können nun deutlich, außer den die Zellen trennenden, primären Wänden, eine schwächer lichtbrechende äußere, und eine stärker lichtbrechende innere Verdickungsschicht in jeder Zelle unterscheiden; letztere ist gefaltet und umgibt ein entsprechend geformtes, mit Resten gebräunter Substanz erfülltes Zellumen. Plötzlich durchbrechen die Verdickungsschichten, stark quellend, die Kutikula, befreien sich von den primären Seitenwänden und brechen schlauchförmig aus dem oberen Ende der Zelle hervor. Während ihrer Größenzunahme krümmen sie sich hin und her und erreichen schließlich wohl das Vierzigfache der ursprünglichen Länge. Dabei wickelt sich die innere, stärker lichtbrechende Verdickungsschicht zu einem relativ derben Schraubenband auf, das im ersten Augen-

[1]) W. Hofmeister, Ber. sächs. Gesellsch. Wiss., 20. Febr. 1858, u. Pflanzenzelle, 1867, S. 205; C. Nägeli, Sitzber. bayr. Gesellsch. Wiss., 9. Juli 1864, S. 116; E. Strasburger, Bau u. Wachstum d. Zellhäute, 1882, S. 72.

blick einfach, bei weiterer Quellung in zwei parallele Schraubenbänder sich zerlegt. Die äußere Verdickungsschicht läßt eine Zusammensetzung aus zahlreichen Lamellen erkennen und zeigt auch meist deutlich eine wenig steile, sehr zarte, schraubige Differenzierung. Die beiden Schraubenbänder der inneren Verdickungsschicht besitzen merkliche Dicke, und man erkennt in ihnen bis vier Lamellen, die sich später voneinander trennen. Das Innere des Schlauches nimmt ein gebräuntes Plasmahäutchen und sonstiger gebräunter, plasmatischer Inhalt ein, der während der Dehnung in Stücke zerrissen wird. Meist ist in ihm noch der gebräunte Zellkern zu erkennen. Die äußere Verdickungsschicht quillt schließlich bis zur Unkenntlichkeit auf, während die Windungen der inneren Schraubenbänder immer weiter auseinander gezogen werden. — Wir führen nunmehr Querschnitte durch die Teilfrüchte aus, die wir in Alkohol untersuchen. Wir sehen an diesen Schnitten zu äußerst eine Schicht hoher, zylindrischer Zellen, deren Mittellamellen braun, deren Verdickungsschichten farblos sind und eine schraubenförmige Differenzierung verraten, und deren Lumen von einem braunen Strang abgestorbener Zellsubstanz erfüllt ist. Wir erkennen in diesen Zellen die nämlichen Elemente wieder, deren Verdickungschichten vorhin verquollen waren. Sie ruhen auf einer mäßig dicken Schicht kollabierter, mit dunkelbraunem Inhalt erfüllter Zellen. Auf diese äußere Haut folgt, von ihr getrennt, nach innen eine zweite von sehr eigentümlichem Bau. Sie zeigt auf ihrer Außenseite flache, scheibenförmige Vorsprünge, die weiß und stark lichtbrechend sind. Diese Vorsprünge sitzen einer bräunlich gefärbten, nur eine Zellage dicken Schicht auf, in der die Grenzen der einzelnen Zellen sich kaum unterscheiden lassen. Jene Zellen haben sehr stark verdickte Wände, die von zahlreichen feinen, nach außen sich verzweigenden Porenkanälen durchsetzt sind. Das äußerst reduzierte Lumen jeder Zelle wird durch einen kleinen, braunen Inhaltsklumpen angezeigt, was die Orientierung über die Zahl der vorhandenen Zellen erleichtert. Der Innenseite dieser porösen Zellen liegt noch eine einfache, sehr flache Schicht braunen Inhalt führender Zellen an. — Der Samen, der die von der inneren Fruchtwand umschlossene Höhlung ausfüllt, ist von einer äußerst zarten Testa umgeben, die aus einer äußeren, netzförmig verdickten Membran und einer ihr angrenzenden, flachen, mit granuliertem Inhalt erfüllten Zellschicht besteht. Nach Zusatz von Wasser läßt sich an den Schnitten das Hervortreten der Verdickungsschichten aus den zylindrischen Zellen der Fruchtoberfläche besonders schön verfolgen. — An Flächenansichten der inneren Fruchtschale könnten die weißen, scheibenförmigen Erhöhungen leicht für Vertiefungen gehalten werden. Sie sind in geringen, annähernd gleichen Abständen auf der Haut verteilt. Bei tieferer Einstellung treten uns die feineren Poren der nächstfolgenden Zellschicht, bei noch tieferer deren braune Inhaltsmassen entgegen. Lassen wir Chlorzinkjodlösung auf die Schnitte einwirken, so sehen wir, daß die äußeren, stark quellenden Verdickungsschichten der Epidermiszellen an der Teilfrucht sich nur schwach violett färben, während die inneren Verdickungsschichten eine intensive Färbung annehmen. Kongorot läßt die äußeren Verdickungsschichten ungefärbt, während die inneren rot werden. Umgekehrt wird Methylenblau von den äußeren Verdickungsschichten, dagegen nicht von den inneren gespeichert. Man kann daraus schließen, daß die inneren Verdickungsschichten zellulosereicher sind, die äußeren vornehmlich aus Pektinverbindungen (s. S. 173, 174) bestehen.

Die Testa der Samen vom Lein, Linum usitatissimum, weist eine äußere Zellschicht auf, deren Außenwände durch quellende Membranschichten fast bis zum Schwinden des Zellumens verdickt erscheinen. Dann folgen zwei Schichten unregelmäßiger, schwach verdickter Zellen: hierauf eine stark verdickte, verholzte Zellschicht, deren Elemente an Querschnitten prismatisch erscheinen, wie Längsschnitte aber lehren, in dieser Richtung sklerenchymfaserartig gestreckt sind. Dann sieht man eine membranartige Schicht, die aus einem zerdrückten und entleerten Gewebe hervorging, endlich eine innerste Zellschicht, deren brauner Inhalt durch die äußere Zellschicht hindurchschimmert und dem Samen seine braune Färbung verleiht. An diese innerste, noch zu der Testa gehörende Zellschicht grenzt das Endosperm. — Um die Schleimschicht der Testa näher kennenzulernen, untersuchen wir zunächst Schnitte durch den reifen Samen in reinem konz. Glyzerin oder in einer gesätt. Chlorkalziumlösung[1]). Die Außenschicht der Testa[2]) erscheint als dicke, farblose, stark lichtbrechende, scheinbar homogene Zelllage. Bringen wir die Schnitte in reines Wasser, so verquellen die Schleimschichten dieser äußeren Zellage, es verbleiben ziemlich dicke, mit einer zarten Kutikula bedeckte Außenwände und dünne Radialwände, die an ihrer Innenkante etwas stärker werden und dort in eine gleichstarke Innenwand übergehen. Um aus unversehrten Zellen hervorzutreten, durchbricht der Schleim ihre Außenwandung; aus den durch den Schnitt geöffneten Zellen tritt er seitlich hervor. Bei Behandlung mit Chlorzinkjodlösung nimmt die Kutikula eine gelbliche, die an diese grenzenden Schichten der Außenwand und die Radialwände, mit Ausnahme ihrer unteren Kante, eine blaue, die unteren Teile der Radialwände, sowie die Innenwände eine gelbe Färbung an. So zeigen sich die zellulosehaltigen und die kutinisierten Teile durch diese Färbungen an. — Um die verschleimenden Membranschichten näher studieren zu können, führen wir Schnitte durch den trockenen Samen aus und härten die quellbaren Schichten in einer 10-proz. Lösung von neutralem Bleiazetat, dann färben wir sie mit Methylenblau, waschen in Wasser aus und schließen in eine Lösung von Borsäure ein. Das Deckglas wird mit einem Gemisch von Vaselin und Paraffin umrandet. Der blaugefärbte Schleim quillt in einem solchen Präparat sehr langsam und pflegt erst nach einigen Tagen die Außenwände der Epidermiszellen zu durchbrechen. Die Schichtung der Wände wird dabei sehr deutlich. Die Intensität der Färbung nimmt innerhalb der Schleimmassen von außen nach innen ab. Will man das Quellen und Lösen des Schleims rascher fortschreiten lassen, so legt man die mit Bleiazetat behandelten und dann gefärbten Schnitte in Sirup von Rohrzucker, oder besser noch von Glykose ein. Der Farbstoff kann auch erst diesem Sirup zugeführt werden. Je nach der Konzentration des Sirups vollzieht sich die Quellung nach einigen Minuten oder Stunden, doch ist die Schichtung weniger deutlich. Die Färbung der Schleimschichten durch das Methylenblau zeigt an, daß der Schleim Pektinstoffen entstammt. Seine Färbung konnte auch mit Neutralrot, mit Naphtylenblau oder mit Safranin vorgenommen werden (vgl. S. 174). Die Teile der Wände konnten wir anderseits mit Kongorot färben. Dieser Farbstoff gestattet es auch, die Anwesenheit von Zellulose im Schleim nachzuweisen. Dann empfiehlt es sich aber, die mit Bleiazetat gehärteten Schnitte

---

[1]) J. GODFRIN, Études histol. sur les tég. sém., 1880, S. 94; L. GUIGNARD, Journ. de Bot., Bd. VII, 1893, S. 104.

[2]) L. MANGIN, Bull. de la soc. bot. de France, 1898, S. 119 ff.

zunächst der Einwirkung von Kalilauge auszusetzen. In den quellenden Verdickungsschichten nimmt die Färbung durch Kongorot von außen gegen die Mitte hin zu. Die mittleren Verdickungsschichten sind es, wie ihre Färbung anzeigt, die außer Pektinstoff die meiste Zellulose enthalten. Der Schleim des Leinsamens ist somit nicht ein einfacher, sondern ein gemischter Schleim, der ganz vorwiegend aus Pektinverbindungen, außerdem aber auch aus Zellulose besteht. Kallose bzw. Kallose-ähnliche Stoffe (vgl. S. 249) scheinen im Leinschleim zu fehlen.

Die mannigfachen Schleime, die in Zellen und interzellularen Behältern innerhalb der Pflanzen vorkommen, hat man in drei Gruppen zu scheiden gesucht, Gruppen, welche den drei fundamentalen Substanzen entsprechen, die in den Aufbau der pflanzlichen Membranen eingehen[1]). Man unterscheidet demgemäß Zellulose-, Pektin- und Kallose-Schleime. — Zelluloseschleime sind selten, vor allem gehört dahin der Orchisschleim (Salep). — Zu den Pektinschleimen gehören die Schleime der Malvaceen, Tiliaceen, Rosaceen, Abietineen, Cycadeen, die Gallertscheiden bestimmter Algen, beispielsweise von Nostoc, der Schleim mancher Ascomyceten. — Kalloseschleim findet sich in Geweben und Membranen vor, die für baldige Auflösung bestimmt sind: so in dem Kallus der Siebröhren[2]).

Außer den einfachen Schleimen gibt es zusammengesetzte, die eine Mischung der einfachen Schleime darstellen. Vor allem sind Gemische von Zellulose- und Pektinschleimen verbreitet. Ein solches Gemisch ist im Schleim der Quittensamen, der Samen von Sinapis nigra und alba, der Teilfrüchte von Salvia, der Samen von Linum, Plantago, auch im Algenschleim von Chondrus crispus, Chorda Filum u. a. gegeben.

Es besteht keine scharfe Grenze zwischen Schleimen und Gummiarten. Letztere lassen sich in zwei Gruppen bringen: Echtes Gummi, das den Farbstoffen gegenüber sich so verhält, wie Pektinschleime, und Mischgummi, das außerdem Zellulose enthält. Zu den echten Gummiarten gehört das Gummi der Aprikose, Pfirsich, Kirsche, des Weinstocks, der Linde, von Ailanthus, arabisches Gummi, das Gummi verschiedener anderer Akazien; zum Mischgummi ist Tragantgummi zu zählen, das sich sowohl mit Rutheniumrot als auch mit Zellulose-Reagentien färbt.

[1]) Nach L. Mangin, Bull. de la soc. bot. de France, Bd. XLI, 1894, S. 41. S. im übrigen, namentlich was die Reaktionen angeht, den Abschnitt „Gummisubstanzen, Hemizellulosen, Pflanzenschleime, Pektinstoffe, Huminsubstanzen“ verf. von V. Grafe in E. Abderhalden, Biochemisches Handlexikon, Bd. II, 1911, S. 1—113.

[2]) Ob auch bestimmte Pilzmembranen und die Wände der Pollenmutterzellen aus Kallose bestehen, erscheint nach den Angaben von F. W. Schmidt, Bau und Funktion der Siebröhre der Angiospermen, Jena 1917, S. 71 ff., fraglich.

XXXII. Abschnitt.

Zell- und Kernteilung[1]. Härtung und Färbung der Teilungszustände. Amitose. Amöboide Kernformen. Zusammenhang der Protoplasten.

Beziehungen zwischen Zellkern und Zytoplasma. Zentriolen. Chondriosomen. Vielzellbildung. Struktur des Zytoplasmas. Physikalische und chemische Einflüsse auf Kern- und Zellteilung. Kernlose Zellen. Bestandteile des Protoplasmas. Lebendes und totes Plasma. Wirkung von Verletzungen auf den Zellinhalt.

Untersuchungsmaterial.

Tradescantia virginica, Staubfadenhaare aus jungen Blütenknospen, frisch. Wurzelspitze von Vicia Faba, frisch und entsprechend fixiert. Lilium Martagon oder eine andere Liliacee, junge Blütenknospen, mit sich teilenden Pollenmutterzellen, frisch, bzw. entsprechend fixiert. Samenanlagen von Monotropa, bald nach vollzogener Befruchtung, frisch. Helleborus foetidus, junge Blütenknospen mit sich teilenden Pollenmutterzellen, frisch. Tradescantia virginica, ältere Stengelglieder, frisch. Zweige von Viscum album, bzw. einer Abies-Art, frisch. Samen von Phytelephas macrocarpa.

Sphacelarien, oder Fucus-Keimlinge, entsprechend fixiert. Avena sativa, Sproß- oder Wurzelspitzen, entspr. fixiert. Fritillaria imperialis, Samenanlagen, während der Endospermbildung, frisch oder entspr. fixiert. Reseda odorata, Agrimonia Eupatoria oder eine Ranunculacee, Samenanlagen während der Endospermbildung, entspr. fixiert. Spirogyra in Teilung. Cladophora glomerata in Teilung. Characeen. Zwiebelschuppen von Allium Cepa.

Wichtigste Reagentien. Einbettungsmittel. Farbstoffe. Einschlußmedien.

Unbedingt notwendig sind: 3-proz. Zuckerlösung, Methylgrün-Essigsäure, 25-proz. Schwefelsäure, Jodjodkaliumlösung, Pyoktanin, Safranin. — Wegen der andern in Betracht kommenden Hilfsmittel wolle man den Text vergleichen.

Ein Objekt, an dem sich die Kern- und Zellteilung unmittelbar verfolgen läßt[2], ist uns in den Staubfadenhaaren der Tradescantia virginica geboten, oder einer anderen, ihr nahe verwandten Art, wie z. B. Tradescantia zebrina, die namentlich für den Winter in Betracht kommt, wo sie im Gewächshaus leicht zum Blühen veranlaßt werden kann. Diese Haare sind uns schon bekannt (siehe S. 140), doch müssen wir sie jetzt in einem Zustand untersuchen,

[1] Der Stand unseres heutigen Wissens darüber ist u. a. zu ersehen aus M. LUNDEGÅRDH, Zelle und Zytoplasma, ferner aus G. TISCHLER, Allgemeine Pflanzenkaryologie, beide erschienen im Handbuch der Pflanzenanatomie, herausgeg. v. K. LINSBAUER, Berlin 1921—22.

[2] Zu Kern- und Zellteilung an lebenden Objekten vgl. auch H. LUNDEGÅRDH, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LI, 1912, S. 263 ff.

wo sie noch nicht ausgewachsen sind und ihre Zellen sich in lebhafter Vermehrung befinden. Zu diesem Zweck wählen wir Blütenknospen aus, die ohne Stiel 5—6 mm hoch sind. Wir öffnen diese Blüten und reißen zunächst mit einer feinen Pinzette die Antheren von den Filamenten ab. Hierauf führen wir mit dem Skalpell einen Schnitt quer unterhalb der Insertion des Fruchtknotens und der Filamente und heben diese gemeinsam aus der Blütenknospe heraus. Wir legen sie in einen Tropfen 3-proz. Zuckerlösung und trennen nun unter dem

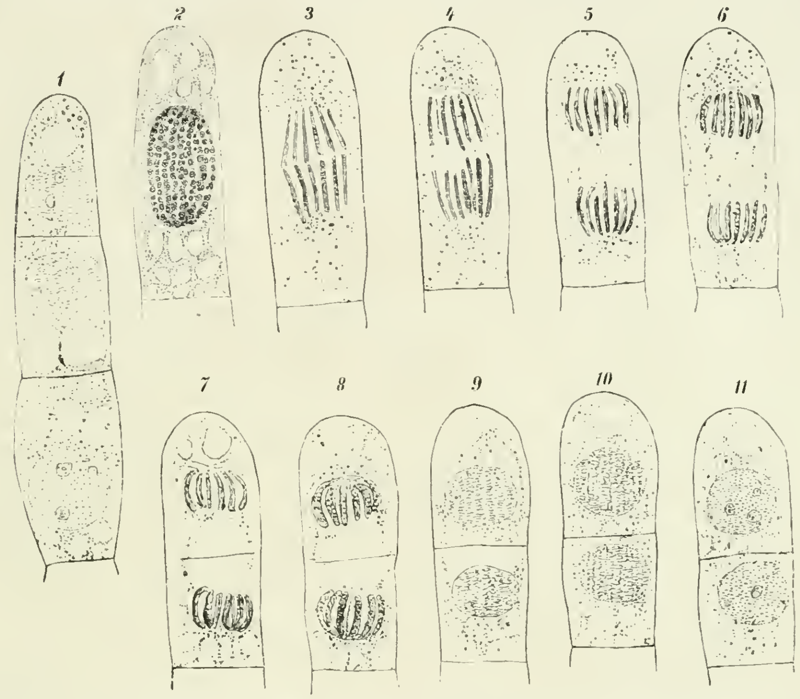


Fig. 249. Tradescantia virginica. Teilungsvorgänge in den Zellen der Staubfadenhaare. Fig. *1* mit einem ruhenden Kern in der unteren Zelle und einer eben geteilten, oberen Zelle. Fig. *2* mit einem grobkörnig-schräge Streifung zeigenden Zellkern. Fig. *3—11* aufeinanderfolgende Teilungsstadien, in derselben Zelle verfolgt. *3* um 10 Uhr 10 Min.; *4* 10 Uhr 20 Min.; *5* 10 Uhr 25 Min.; *6* 10 Uhr 30 Min.; *7* 10 Uhr 35 Min.: *8* 10 Uhr 40 Min.; *9* 10 Uhr 50 Min.; *10* 11 Uhr 10 Min.; *11* 11 Uhr 30 Min. Vergr. 540.

Präpariermikroskop mit den Nadeln die einzelnen Filamente ab. Den Fruchtknoten und Blütenboden entfernen wir hierauf aus dem Präparat. Die Beobachtung erfolgt entweder direkt auf dem Objektträger, oder im hängenden Tropfen am Deckglas einer feuchten Kammer (s. S. 150, 468, 508). Im letzteren Fall gelingt es, die Haare einen halben Tag und darüber in entwicklungsfähigem Zustand zu erhalten; freilich werden die tiefer im Tropfen befindlichen Haare stärkeren Vergrößerungen unzugänglich. Man muß überhaupt darauf achten, daß der Tropfen flach ausgebreitet ist[1]).

Der ruhende Kern erscheint fein punktiert (Fig. 249, *1*, die untere Zelle); betrachtet man ihn aber bei starker Vergrößerung oder auch

[1]) Vgl. dazu Reg. IV Hängender Tropfen.

in solchen Zellen, die unter dem Einfluß der umgebenden Flüssigkeit etwas gelitten haben, so sieht man, daß er nicht isolierte, vielmehr dicht aneinandergereihte, kleine Körnchen führt, die in ein zartes Wabenwerk eingebettet sind. Der ganze Kern stellt ein von dünner Zytoplasmaschicht umschlossenes Gerüstwerk dar. In diesem Gerüstwerk lassen sich mehrere verschieden große Kernkörperchen unterscheiden. Die den Kern umschließende Zytoplasmaschicht, die Kernwandung[1]), hängt durch zytoplasmatische Stränge mit dem zytoplasmatischen Wandbeleg zusammen. Dieses ganze Zytoplasma führt außer den kaum unterscheidbaren Mikrosomen größere, stärker das Licht brechende Körner, welche Leukoplasten sind. Der zur Teilung sich anschickende Kern nimmt an Größe zu, und aus seinem feinfädigen Gerüstwerk sondert sich allmählich ein grobkörniger Faden heraus. Hierauf beginnt der Kern sich in die Länge zu strecken, und die Windungen seines Fadens ordnen sich in schräger Richtung annähernd parallel zueinander an (Fig. 249, *2*). Zugleich beginnt sich das Zellplasma an den beiden Kernpolen zu sammeln. Man kann leicht alle die geschilderten Veränderungen an ein und derselben Zelle beobachten, doch nehmen sie relativ lange Zeit in Anspruch. Hierauf werden die Körner in dem Faden undeutlich; er gewinnt allmählich ein homogenes Aussehen und lagert seine Windungen in einer bestimmten Weise, die im einzelnen zu verfolgen nicht möglich ist; zugleich schwindet die Kernwandung. Mit Sicherheit können wir nach einiger Zeit dann wieder feststellen, daß der Kernfaden in einzelne Segmente oder Chromosomen zerfallen ist, und daß diese sich voneinander sondern, um das deutliche Bild (*3*) zu liefern, in dem diese Chromosomen sich uns als gerade, annähernd gleichlange, in zwei Gruppen getrennte, mit ihren Enden im Äquator aufeinanderstoßende Stäbchen zeigen. Nicht selten sind solche Chromosomen an ihrem polaren Ende hakenförmig umgebogen. Von dem Augenblick, in dem uns der Kerninhalt grobkörnig erschien (*2*), bis zu diesem Zustand, mag über 1 Std. verflossen sein. Die Chromosomen sehen fast homogen aus, doch kann man bei starker Vergrößerung schwache Einschnürungen an ihrer Oberfläche erkennen, die einen Aufbau aus aufeinanderfolgenden, scheibenförmigen Abschnitten verraten. Bei beschränkter Zeit wählen wir zur anhaltenden Beobachtung erst die jetzt folgenden Zustände aus. Eine weitere Trennung der beiden Kernhälften ist dann in den nächsten Minuten zu erwarten und verläuft so rasch, daß sie direkt wahrgenommen werden kann. Die beiden Kernhälften weichen in der Längsrichtung auseinander (*4*). Fünf Minuten später sind sie um einen merklichen Abstand entfernt (*5*). Nicht immer trennen sich alle Tochterchromosomen gleichzeitig voneinander, manche bleiben zunächst verbunden und eilen erst dann den anderen nach. Die Tochterchromosomen biegen sich polwärts ein, werden zugleich etwas kürzer und entsprechend dicker (*5*). Zwischen den beiden Kernhälften verbleibt eine glashelle Substanz, die dann sichtbar vermehrt wird (*5* und *6*). In dieser glashellen, zentralen Masse läßt sich eine feinere Struktur nicht unterscheiden, doch ist sie tatsächlich in Fäden differenziert. Sie nimmt allmählich tonnenförmige

[1]) Vgl. hierzu u. a. Å. Åkerman, Lunds Univ. Årskr., N. F., Avd. 2, Bd. XII, Nr. 4, 1915—16.

Gestalt an. Es mögen 25—30 Min. seit dem Beginn des Auseinanderweichens verflossen sein, da treten in der äquatorialen Ebene der zentralen Masse schwarze, aneinandergereihte Punkte auf. Sie stellen die sog. Zellplatte vor. Im nächsten Augenblick verschmelzen diese Punkte miteinander und bilden eine scharf gezeichnete, dunkle Linie: eine die beiden Tochterzellen trennende Hautschicht. Innerhalb dieser wird gleich darauf eine junge, aus Membranstoff bestehende Scheidewand erzeugt. Ist der zentrale, tonnenförmige, plasmatische Körper so breit gewesen, daß er den ganzen Querschnitt der Zelle durchsetzte, so sieht man auch die entstehende Scheidewand sofort allseitig der Mutterzellwand anschließen. Füllte der plasmatische Körper hingegen nicht den ganzen Querschnitt und lag er nur einer Seite der Mutterzellwand an, so sehen wir ihn, nach vollzogener Bildung der jungen Scheidewand, an der betreffenden Stelle sich innerhalb des Zelleibes bewegen, um allmählich nach allen Richtungen hin mit der Mutterzellwand in Berührung zu kommen und die noch fehlenden Teile der Scheidewand zu ergänzen (*7*, *9*). Währenddessen krümmen die Chromosomen in den Tochterkernanlagen auch ihre äquatorialen Enden nach innen um (*7*—*8*). Die Chromosomen drängen sich zusammen bis zur gegenseitigen Berührung, und die ganze Anlage wird von der Umgebung durch eine Kernwandung abgegrenzt. Hierauf beginnen die Chromosomen wieder wabig zu werden (*9* und *1* in der oberen Zelle) und stellen das zarte, feinkörnige Gerüst des ruhenden Kerns wieder her (*10* und *11*), das den Ausgangspunkt unserer Beobachtung bildete. Gleichzeitig haben die beiden Tochterkerne an Größe zugenommen und sich dabei langsam in die Nähe der neugebildeten Scheidewand begeben. — Anderthalb Stunden etwa nach Beginn des Auseinanderweichens der Chromosomen, das wir verfolgt haben, ist die Bildung der Tochterkerne vollendet, und es werden auch Kernkörperchen in ihnen sichtbar (*11*).

Dieses überaus günstige Objekt, das den Kern- und Zellteilungsvorgang so leicht im Leben verfolgen läßt, kann man auch zum Studium bestimmter Beziehungen zwischen Kern und Zytoplasma verwerten. Man stellt dann fest, daß bestimmte Einwirkungen, welche die Bewegungsvorgänge im Zytoplasma sistieren, ja dieses Zytoplasma unter Umständen selbst töten, die Lebensvorgänge im Zellkern nicht sofort aufzuheben brauchen. Die Teilungsvorgänge des Kerns schreiten in den Zellen der Staubfadenhaare von Tradescantia unter solchen Verhältnissen weiter fort, zeigen somit an, daß sie zum mindesten in diesem Fall von den im Zytoplosma sich abspielenden Lebensvorgängen unabhängig sind; hingegen kommt es alsdann nicht zur Anlage einer Zellwand, deren Bildung sich damit an die aktive Beteiligung des Zytoplasmas gebunden zeigt[1]). Zu diesen Versuchen empfiehlt es sich, entsprechend eingerichtete feuchte Kammern (s. S. 508ff. und Reg. IV) zu verwenden, in denen das Objekt im hängenden Tropfen untergebracht wird. Durch die auf dem Objekttisch des Mikroskops befestigte Kammer leitet man nun Sauerstoff, oder Kohlensäure, oder Wasserstoff, oder ein anderes Gas, dessen Einwirkung man studieren will. Es muß dafür gesorgt werden, daß das benutzte Gas möglichst rein ist. Auch muß es mit Wasserdampf gesättigt sein; zu diesem Zweck

[1]) Vgl. J. Demoor, Archives de Biologie, T. XIII, 1894. Vgl. auch P. Samassa, Verhandl. d. naturhist. Ver. zu Heidelberg, N. F., VI, Bd. V, S. 9—12.

schaltet man vor die feuchte Kammer einen Zylinder ein, den man mit Wasser-durchtränkten Fließpapierschnitzeln füllt. Aus der Kammer leitet man das Gas durch ein Rohr in ein Gefäß mit ein wenig Wasser, um aus der Zahl der das Wasser passierenden Gasblasen auf die Schnelligkeit des Gasstroms schließen zu können, und diese Schnelligkeit nach Wunsch zu regulieren. 5 L Gas dürfen durchschnittlich in 1 Std. die Kammer passieren; die Versuche selbst werden 1—3 Std. dauern. Bestimmte, so eine der im Reg. IV erwähnten Engelmannschen Kammern gestatten es, den Einfluß der Luftverdünnung auf das Präparat unmittelbar zu verfolgen. Von Interesse ist es auch, dem Präparat Wasser zuzusetzen, das Chloroform (vgl. auch S. 150) enthält[1]). Im Ergebnis wird man finden, das Wasserstoff, Kohlensäure und starke Luftverdünnung übereinstimmend wirken und die Bewegungserscheinungen im Zytoplasma sistieren, während die in Teilung begriffenen Kerne ihre Teilung gleichzeitig fortsetzen, ja selbst in eine neue Teilung eintreten können. Bereits begonnene Scheidewandbildung kann in solchen Fällen zu Ende geführt werden, eine neue Zellplatte und somit auch Scheidewand kommt hingegen nicht zur Ausbildung. Sie wird hingegen erzeugt, wenn, bevor das Zytoplasma dauernd gelitten hat, wieder Luft zu dem Präparat zugeführt wird. Zunächst stellen sich dann die Bewegungserscheinungen im Zytoplasma wieder ein. In Kohlensäure wird augenscheinlich das Zytoplasma der sich teilenden Zellen rasch getötet: es vakuolisiert sich stark und kehrt bei Zufuhr von Luft nicht zum normalen Zustand zurück. Nichts destoweniger dauern die Vorgänge der Kernteilung an. Sauerstoff aktiviert die Kern- und Zellteilung. Chloroform aktiviert zunächst auch, doch nur für eine ganz kurze Zeit, die Tätigkeit des Zytoplasmas und anästhesiert es hierauf; die Aktivierung der Tätigkeit der Kerne hält weit länger an, erst viel später werden auch diese anästhesiert. Die Wirkung niederer Temperaturen, die man in den feuchten Kammern verfolgen kann, bietet nicht minderes Interesse. Der Kern widersteht niederen Temperaturgraden besser als das Zytoplasma, zngleich fällt es bei niederen Temperaturen wohl auf, daß die Zytoplasmaansammlungen an den Kernpolen sich schärfer zeichnen. Sie treten auch in der Kälte besser hervor, eine Erscheinung, die sich bei der Einwirkung von Sauerstoff, Wasserstoff oder luftverdünntem Raum ebenfalls einstellen kann[2]).

Um eingehende Studien der Kernteilung anzustellen, gilt es, sich an gut fixierte, in möglichst feine Schnittserien zerlegte und entsprechend gefärbte Präparate zu halten. Die auf den Seiten 59—88 der Einleitung gegebenen Vorschriften finden vorwiegend auf dem hier in Betracht kommenden Gebiet Anwendung.

Als besonders geeignete Objekte für die Einübung der mikroskopischen Technik und zugleich auch für das Studium der Kern- und Zellteilung sind Wurzelspitzen zu empfehlen. Wir wählen für die Untersuchung die Buffbohne (Vicia Faba), von der man sich jederzeit geeignetes Material verschaffen kann. Es genügt, Buffbohnen einige Stunden in warmem Wasser quellen zu lassen, sie dann in feuchte Sägespäne zu legen und an einen warmen Ort zu stellen. Sie treiben alsbald aus, und in 2—4 Tagen kann mit der Fixierung der Wurzelspitzen der Keimlinge begonnen werden; in diesem Fall

[1]) Das Wasser wird mit Chloroform, das nur in geringen Spuren in Wasser löslich ist, gesättigt und dann zur Hälfte oder noch stärker verdünnt.

[2]) Vgl. im übrigen J. Demoor, l. c. 1894. S. a. Å. Åkerman, l. c. 1915—16.

ist die in der Einleitung zu zweit genannte der schwächeren Chrom-Osmium-Essigsäure-Lösungen für die Fixierung zu wählen. Man sollte nicht über 6 mm lange Stücke der Wurzelspitze verwenden. Nachdem dann die weiteren Manipulationen ausgeführt sind, gilt es, jede Wurzelspitze in Paraffin einzubetten, daß die Herstellung gut

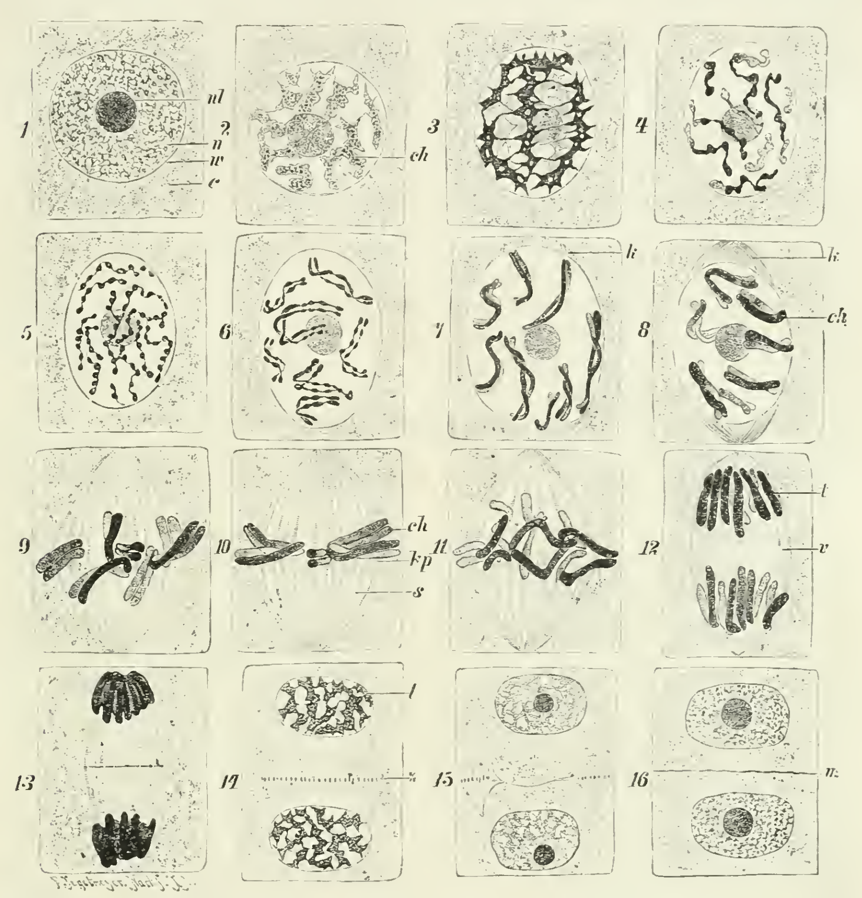


Fig. 250. Aufeinanderfolgende Stadien der Kern- und Zellteilung aus dem embryonalen Gewebe der Wurzelspitze einer höher organisierten Pflanze, etwas schematisiert. Als Vorlage dienten Längsschnitte aus Material, das mit Chrom-Osmium-Essigsäure fixiert und mit Eisen-Hämatoxylin bzw. dem Dreifarbengemisch gefärbt war. *n* Kern, *nl* Nucleolus, *w* Kernwandung, *c* Zytoplasma, *ch* Chromosomen, *p* Polkappen, *s* Spindel, *kp* Kernplatte, *t* Tochteranlage, *v* Verbindungsfäden, *z* Zellplatte, *m* neue Scheidewand. Die Chondriosomen sind bei solcher Fixierung und Färbung nicht sichtbar. In *1* der Kern in Ruhe. In *2—5* fortschreitende Trennung der Chromosomen und Sonderung ihrer Substanz in dichtere und weniger dichte Abschnitte. In *6* die Längsspaltung der Chromosomen. In *7* und *8* allmähliches Kürzer- und Dickerwerden der bereits gespaltenen Chromosomen; an den Kernpolen Anlage der Polkappen. In *9* Auflösung der Kernwandung, Bildung der Spindelfasern von den Polkappen aus und Einordnung der gespaltenen Chromosomen in die äquatoriale Kernplatte. In *10* fertiggestellte Kernplatte. In *11* beginnende Trennung der Tochterchromosomen in Richtung der Pole. In *12* die getrennten Tochterchromosomen in der Nähe der Spindelpole. In *13—16* Bildung der Tochterkerne; in *13* und *14* zugleich Anlage der Verbindungsfäden mit Zellplatte, in *15* und *16* Ausbildung der neuen Scheidewand. Vergr. ca. 1000.

orientierter Längsschnitte aus ihr möglich ist. In den fertiggestellten, mit geeigneten Tinktionsmitteln, etwa Safranin-Gentianaviolett-Orange oder auch Eisen-Hämatoxylin gefärbten Präparaten wird man nach Kern- und Zellteilungen nicht lange zu suchen brauchen. Sie verlaufen im wesentlichen so, wie in dem durch die Fig. 250 vorgeführten Schema. Dieses soll demgemäß zur Orientierung dienen. Es zeigt uns in *1* den noch ruhenden, annähernd kugeligen, mit einem oder mit mehr Kernkörperchen (*nl*) versehenen Zellkern (*n*), aus dessen feinem Gerüstwerk sich in *2* die einzelnen Chromosomen herauszusondern beginnen. Wir sehen das feine Gerüstwerk des ruhenden Zellkerns sich auf einzelne Punkte zusammenziehen und sich in eine bestimmte Anzahl von Gebilden sondern (*2 ch*, *3*), die zunächst unregelmäßig umschrieben sind, bald aber Fadenform (*4*, *5*) annehmen. Diese Fäden, die Chromosomen, werden dichter und speichern dann bestimmte Farbstoffe stärker auf. Die färbbare Substanz der Fäden, das Chromatin, sammelt sich in mehr oder weniger deutlicher Weise zu aufeinanderfolgenden Abschnitten an, zwischen denen schmale, nicht oder nur schwach gefärbte Brücken aus Linin sich zeigen (*4*, *5*). Sie erfahren eine Längsspaltung (*6*), werden dicker und kürzer (*7*, *8*), worauf ihre Beförderung nach der Teilungsebene erfolgt, wo sie die sog. Kernplatte oder Äquatorialplatte bilden (*9*, *10 kp*). Die beiden Längshälften jedes Chromosoms rücken hierauf in entgegengesetzter Richtung auseinander (*11*. *12*. *13*), um die beiden Tochterkerne (*14*, *15*, *16*) zu bilden.

Während das Kerngerüst sich in die einzelnen Chromosomen sondert, legen sich der Kernwandung Zytoplasmafäden an und umgeben sie mit einer faserigen Schicht. Diese sammelt sich alsbald an zwei gegenüberliegenden Seiten der Kernwand an und bildet Polkappen (*7*, *8*), in denen sich dann zarte Fasern sondern. Diese neigen polwärts zusammen und treffen dort schließlich meist aufeinander, worauf sie sich zu einem zugespitzten Büschel strecken (*8 k*). Hierauf wird das Kernkörperchen aufgelöst, die Kernwandung schwindet, und die Fasern der Kappen wachsen in die Kernhöhle hinein (*9*, *10*). Sie endigen dort entweder an den Chromosomen, oder treffen mit den Enden aufeinander, um sich zu vereinigen und als ununterbrochene Fäden von einem Pol zum andern zu verlaufen. Damit ist die Kernspindel (*9*, *10*) fertiggestellt. Die Kernkörperchen scheinen einen Reservestoff darzustellen, der zur Ernährung der Chromosomen dient und hierauf auch die Substanz zur Bildung der Spindelfasern liefert[1]). Ein etwaiger Überschuß an Nukleolarsubstanz verteilt sich im umgebenden Zytoplasma, um dort sog. extranukleare Nukleolen zu bilden. Durch diejenigen der in die Kernhöhle eindringenden Fasern, welche auf die Chromosomen treffen, werden diese zunächst nach der Äquatorialebene (*9*, *10*) befördert. Dieselben Fasern werden zugleich mit dem Auseinanderweichen der aus der Längsspaltung der Mutterchromosomen hervorgegangenen Tochterchromosomen (*11*, *12*) kürzer. Die Tochterchromosomen gelangen schließlich in entgegengesetzter Richtung nach den Spindelpolen. Dabei werden sie polwärts

---

[1]) Vgl. M. KOERNICKE, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXI, 1904, S. (111). S. a. A. MEYER, Ebenda, Bd. XXXV, 1917, S. 333; ferner Derselbe, Morphol. und physiol. Analyse der Zelle, I. Teil, Jena, 1920, S. 189 ff.; dort die neuere Literatur.

gekrümmt, entsprechend der Stelle, an der sie von den Fasern erfaßt wurden (*11*). Die so sich präsentierenden Teilungsbilder führten seinerzeit zu der Annahme, daß die an die Chromosomen ansetzenden Fasern als „Zugfasern" wirkten, während die von Pol zu Pol verlaufenden „Stützfasern" für diesen Vorgang die nötigen Widerstände abgäben. Vielfach lassen sich die Spindelenden bis an die Hautschicht des Protoplasten verfolgen, und man kann dann feststellen, daß sie an dieser befestigt sind. An den Spindelpolen angelangt, drängen sich die Tochterchromosomen aneinander; dann grenzt sich das umgebende Zytoplasma mit einer Hautschicht gegen die Kernanlage ab und bildet die Kernwandung. Innerhalb der Tochterkernanlage nehmen die Chromosomen wieder einen wabenartigen Bau an (*14*) und vereinigen sich miteinander zu einem Gerüstwerk (*15*), in dem ihre Grenzen meist nicht mehr zu erkennen sind (*15, 16*), in dem sie aber, wie man annehmen muß, ihre Selbständigkeit nicht einbüßen. Die Kernanlage wird dabei größer; es treten Nukleolen in Ein- und Mehrzahl in ihr auf (*15, 16*), während die extranuklearen Nukleolen gleichzeitig im Zytoplasma schwinden. Schließlich ist der Ruhezustand wieder erreicht.

Die Vorgänge, die sich während der Vorbereitung zur Teilung in einem Mutterkern abspielen, werden als Prophase der Teilung bezeichnet. Sie reichen bis zur Bildung der Kernplatte, vor deren Fertigstellung auch die Längsspaltung der Chromosomen sich vollzieht. Das Stadium der Kernplatte ist die Metaphase. Das Auseinanderweichen der Tochterchromosomen erfolgt in der Anaphase, die Bildung der Tochterkerne in der Telophase der Teilung. Der Höhepunkt der ganzen Kernteilung, derjenige Vorgang, der zur Bildung quantitativ und qualitativ gleicher Teilungsprodukte führt, liegt in der Längsspaltung der Chromosomen. Die fortschreitenden Vorgänge der Kernteilung gehen mit dem Auseinanderweichen der Tochterchromosomen in die rückläufigen über. In den Telophasen stellen sich rückläufige Veränderungen an den Chromosomen ein, durch die der Bau des ruhenden Kerns wieder zustande kommt.

Wie der Zellteilungsvorgang in den Geweben der höher organisierten Gewächse an die Kernteilung anknüpft, können wir an unseren Präparaten ebenfalls leicht feststellen. Während die Tochterchromosomen sich trennen, verbleiben die von Pol zu Pol reichenden Fasern der Kernspindel als Verbindungsfäden (Fig. 250, *12 v*; Fig. 254, *12, 16*). Ihre Zahl wird durch Einschaltung neuer Verbindungsfäden vermehrt (Fig. 250, *13, 14*). Sie stellen alsdann zusammen einen tonnenförmigen Körper, den Verbindungsfadenkomplex oder Phragmoplasten dar, der sich entweder von den Tochterkernanlagen ganz trennt oder mit ihnen durch eine Hülle, den Verbindungsschlauch, verbunden bleibt. Ersteres findet in Zellen statt, die mit Zytoplasma dicht erfüllt sind, letzteres in saftreicheren Zellen. Jeder Verbindungsfaden schwillt alsbald in der Äquatorialebene etwas an (Fig. 250, *14*), wodurch die wie eine Körnchenreihe sich darstellende Zellplatte entsteht. Ist die betreffende Zelle sehr plasmareich, oder besitzt sie nur eine geringe Breite, so erreicht der Komplex der Verbindungsfäden allseitig ihre Seitenwände (Fig. 250, *16*). Aus der verschmelzenden Substanz der Elemente der Zellplatte geht als-

dann eine zytoplasmatische Hautschicht hervor, die sich spaltet und in der Spaltungsfläche die Scheidewand aus Zellstoff ausscheidet, die annähernd simultan die Mutterzelle in zwei Tochterzellen teilt (Fig. 250, *15*, *16*). Ist die betreffende Zelle mit einem größeren Saftraum versehen, so vermag der Komplex der Verbindungsfäden sie nicht mit einem Mal zu durchsetzen; er bildet die Scheidewand vielmehr succedan aus, zunächst einen Teil, der an eine Seiten-

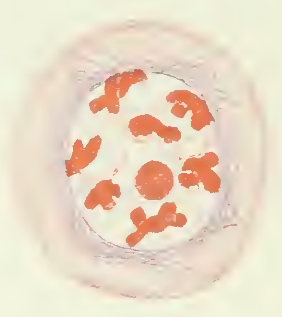




Fig. 251. Kernteilungsbilder, entsprechend den in den Fig. 250, *11* und 254, *8* dargestellten Stadien, aus Material, das mit Chrom-Osmium-Essigsäure fixiert und an Mikrotomschnitten, nach Entfernung der Osmium-Schwärzungen, mit Safranin-Gentianaviolett-Orange gefärbt wurde.



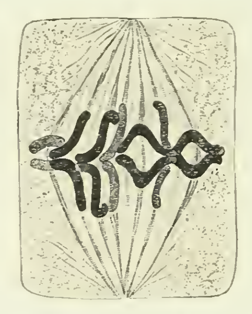


Fig. 252. Dieselben Kernteilungsbilder wie in Fig. 251, aus entsprechend behandeltem Material, jedoch mit Eisen-Hämatoxylin gefärbt.

wand der Mutterzelle anschließt, dann einen folgenden Teil, wobei er an seinem freien Rand die Zellplatte ergänzt, von den schon gebildeten Teilen der Scheidewand sich zurückzieht und so fort, bis der ganze Querschnitt der Mutterzelle durchsetzt und ihre Teilung damit vollendet ist.

Die Fasern stellen einen zu bestimmten Zeiten klar zutage tretenden, besonders aktiven Bestandteil des Zytoplasmas dar, der als Kinoplasma bezeichnet wurde, und greifen entscheidend in den Teilungsvorgang sowohl des Kerns, wie des ganzen Zelleibes ein. Bei günstig ausgefallener Wirkung der in Anwendung gebrachten 3 Farben, Safranin Gentianaviolett-Orange G (vgl. S. 83), erscheinen die Chromosomen in den Präparaten rot, die Spindelfasern und hierauf die Verbindungsfäden violett, während das übrige Zytoplasma hellbräunlich ist (s. Fig. 251). In Präparaten, die nach dem Heidenhainschen Eisen-

Hämatoxylin-Verfahren (vgl. S. 86) gefärbt wurden, zeigen die einzelnen Zellbestandteile sich in der durch Fig. 252 illustrierten Weise tingiert.

Bei den höher organisierten Gewächsen gelingt es nicht, individualisierte Attraktionszentren an den Polen der Kernspindeln nachzuweisen[1]). Solche meist als Zentriolen bezeichnete Gebilde[2]) sind hingegen im Tierreich weit verbreitet und kommen auch in den unteren Abteilungen des Pflanzenreichs vor. — Die besten Objekte, um pflanzliche Zentriolen zu studieren, geben die Scheitelzellen der Sphacelarien oder junge Keimpflanzen von Fucus ab, die man 1, 2 und 3 Tage nach vollzogener Befruchtung der Eier fixiert (s. S. 497). Als Fixierungsmittel für Fucus-Keimlinge oder Sphacelarien hat sich 1-proz. Chromsäure in Seewasser, oder die stärkere Chrom-Osmium-Essigsäure-Lösung, zur Hälfte mit Seewasser verdünnt, bewährt. Die Färbung ist mit Safranin-Gentianaviolett-Orange oder HEIDENHAINschem Eisen-Hämatoxylin auszuführen (vgl. S. 83, 86). Die Untersuchung kann nur an Mikrotomschnitten von höchstens 5 μ Dicke mit Aussicht auf Erfolg vorgenommen werden. Man kann es bei entsprechendem Ausprobieren der Behandlung dazu bringen, daß bei dem HEIDENHAINschen Verfahren fast nur die Zentriolen in dem Präparat, und zwar annähernd schwarz gefärbt, erscheinen[3]). Da die Bestandteile des Zellkerns gleichzeitig sich fast völlig entfärbt haben, so ist dieses Verfahren nur für Zentriolenstudien, nicht aber für Untersuchung der Kernstrukturen zu empfehlen. Man kann evtl., um die Kernstrukturen wieder vortreten zu lassen, mit Rubin in schwach saurer Lösung nachfärben. Die Fixierung mit Osmiumgemischen hat sich wiederholt als ungünstig für die Zentriolenfärbung mit Eisen-Hämatoxylin ergeben, und es wären somit stets auch Fixierungen mit Sublimatlösungen für diesen Zweck vorzunehmen. — Die Zentriolen können in einer homogenen Plasmakugel, einem „Zentrosom" eingeschlossen sein. Zur Zeit erhöhter Tätigkeit treten mehr oder weniger deutliche Plasmastrahlungen um sie auf.

In der Nähe des Kerns, aber auch sonst im Zytoplasma der Zelle verteilt, lassen sich noch stark lichtbrechende morphologisch und physiologisch ungleichwertige Gebilde von der Form unregelmäßig ausgebildeter Fäden, Stäbchen, Spindeln oder Kügelchen feststellen (vgl. Fig. 253 *ch*), die in ihrem Aussehen und ihrem Verhalten gegenüber den Reagentien eine so große Übereinstimmung mit den Chondriosomen embryonaler, tierischer Zellen zeigen, daß man sich bestimmen ließ, dieselbe Bezeichnung auf sie auszudehnen[4]). Ihr Nachweis gelingt aber nur nach Anwendung bestimmter Fixierungs- und Färbungsmethoden. Gute Resultate ergab u. a. die Fixierung mit BENDAscher Flüssigkeit (15 ccm 1-proz. Chromsäure, 4 ccm 2-proz. Osmiumsäure, 3—5 Tropfen Eisessig[5]). Die beste Färbung ließ

[1]) M. KOERNICKE, Flora, Bd. XCVI, 1906, S. 501 ff.

[2]) U. a. FR. MEVES, Mitteil. Ver. Schlesw.-Holst. Ärzte, Jahrg. X, 1902, Nr. 6, und Derselbe, Arch. f. mikroskop. Anatomie, Bd. XCI, 1918, S. 300. Vgl. im übrigen O. u. G. HERTWIG, Allgemeine Biologie, 5. Aufl., 1920, S. 49.

[3]) FR. MEVES, Arch. f. mikrosk. Anat., Bd. LXX, 1907, S. 417. Vgl. auch Reg. IV Chondriosomen.

[4]) Von solchen Chondriosomen pflanzlicher Zellen wurden von einigen Forschern die Chromatophoren abgeleitet (vgl. S. 163). S. dagegen K. L. NOACK, Zeitschr. f. Bot., Bd. XIII, 1921, S. 1 ff. Diesem entgegen jedoch wieder G. FRIEDRICHS, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LXI, 1922, S. 430 ff. Dort auch die wichtigsten hierhergehörigen Literaturangaben.

[5]) U. a. G. LEWITSKY, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXVIII, 1910, S. 540, u. Bd. XXIX, 1911, S. 690. Vgl. zu den Methoden auch Reg. IV Chondriosomen.

sich mit HEIDENHAINS Eisen-Hämatoxylin erreichen, und zwar auf dem von MEVES vorgeschlagenen Wege der gleichzeitigen Behandlung einer größeren Menge von Präparaten, bei der die Dauer der Differenzierung im Eisenalaun für jedes Präparat verschieden währt, somit die Wahrscheinlichkeit besteht, daß in einigen Präparaten gerade der für das Studium der Chondriosomen günstige Differenzierungsgrad eingehalten ist[1]). Auf diesem Wege lassen sich z. B. die Chondriosomen in den Zellen der Sproßvegetationskegel von Avena sativa (vgl. Fig. 253) leicht sichtbar machen. — Als besonders zuverlässig zur Erhaltung der Chondriosomen erwies sich das REGAUDsche Gemisch in der von SAPĚHIN vorgeschlagenen Modifikation. Man bringt dabei die Objekte für 4 Tage in ein Gemisch von 50 T. 10-proz. Formol und 50 T. 2-proz. Kaliumbichromat, wobei die Fixierungsflüssigkeit täglich erneuert werden muß. Dann folgt eine Nachbehandlung mit 2-proz. Kaliumbichromat, mehrstündiges Auswässern, Übertragen in steigende Alkohole, Einbetten in Paraffin in gewohnter Weise. Sind die zu fixierenden Pflanzenteile klein, so genügt oft schon eine 24-stünd. Einwirkung des Formalin-Kaliumbichromats und 48-stünd. Nachbehandlung in Kaliumbichromat. Die sehr dünnen (2—4 μ) Schnitte aus dem in Paraffin eingebetteten Material färbt man am besten nach dem ALTMANNschen Säurefuchsin-Verfahren. Man läßt auf die Schnitte 2—6 Stunden lang in dem auf 60° erwärmten Paraffinofen Säurefuchsin einwirken, differenziert dann mit Pikrinsäure und schließt in Kanadabalsam ein. In gut differenzierten Präparaten zeigt sich das Plasma fast vollkommen entfärbt, die Chromatophoren-Anlagen (Plastiden) erscheinen satt-rot, die Chondriosomen etwas schwächer gefärbt. Das Chromatin der Kerne hält nur sehr wenig Farbstoff fest, im Gegensatz zu den Nukleolen, welche tief braunrot erscheinen[2]).



Fig. 253. Drei Zellen aus einem in BENDAscher Flüssigkeit fixierten und nach dem MEVESschen Eisen-Hämatoxylin-Verfahren gefärbten Mikrotomschnitt eines Sproßvegetationskegels von Avena sativa, die im Zytoplasma verteilten Chondriosomen *ch* neben dem Kern *k* zeigend. Vergr. 1800.

Neben diesen Chondriosomen finden sich vielfach im Zytoplasma besonders plasmareicher Zellen, wie Pollen, Tapetenzellen, Embryosackmutterzellen u. ä., zu Büscheln oder Bündeln vereinigte, fädige Strukturen, die man unter der Bezeichnung „Ergastoplasma" zusammenfaßte, und die sich auch in tierischen Zellen fanden[3]).

Will man Kern- und Zellteilungen rasch im fixierten und gefärbten Zustand zur Ansicht bringen, so verwende man Methylgrün-Essigsäure. Die Färbung und Fixierung ist freilich bei weitem unvollkommener als bei dem weit umständlicheren, früher geschilderten Verfahren, allein sie läßt die sofortige Beobachtung zu und erweist,

[1]) FR. MEVES, l. c. 1907, vgl. auch Reg. IV Chondriosomen.
[2]) Vgl. K. L. NOACK, l. c. 1921, S. 5.
[3]) Vgl. u. a. C. BONNET, Anat. Anz., Bd. XXXIX, 1911, S. 67, und A. PENSA, l. c. 1911, S. 521.

wo solche notwendig ist, immerhin nicht zu unterschätzende Dienste[1]).

Vor allem sehen wir uns die zuvor frisch untersuchten Tradescantiahaare in Methylgrün-Essigsäure an. Wir entnehmen das Untersuchungsmaterial in der angegebenen Weise den Blütenknospen und tauchen es auf dem Objektträger in vorher dort aufgetropfte Methylgrün-Essigsäure unter. Wir legen ein Deckglas auf und drücken es etwas an, um die Antheren entsprechend abzuflachen, entfernen hierauf den Überschuß der Lösung am Rand des Deckglases mit Fließpapier. Die Fixierung ist in diesem Fall eine recht unvollkommene, doch treten einzelne Zustände immerhin weit schärfer als in frischem Zustand hervor. Wir wenden unser Augenmerk vornehmlich jenen Stadien zu, die den tonnenförmigen Plasmakörper, in dem die Zellteilung vor sich gehen soll, zwischen den beiden Tochterkernanlagen schon ausgebildet zeigen. Dieser tonnenförmige Körper, der uns am frischen Objekt homogen erschien, läßt nach der Einwirkung der Essigsäure jetzt deutlich seine faserige Struktur erkennen; er besteht aus den zwischen den beiden Kernanlagen verlaufenden Verbindungsfäden und zeigt zugleich, daß die Zellplatte, aus der die trennende Hautschicht hervorgehen soll, einer stäbchenförmigen Verdickung der Verbindungsfäden im Äquator der Zelle ihre Entstehung verdankt.

Um Teilungszustände in der Wurzelspitze von Vicia Faba mit Methylgrün-Essigsäure zu fixieren, wählen wir eine recht kräftig wachsende Wurzel aus, suchen eine Anzahl möglichst zarter Längsschnitte zwischen den Fingern (S. 345, 363) aus ihrer Spitze herzustellen und tauchen diese unmittelbar in die bereit gehaltene Methylgrün-Essigsäure auf dem Objektträger ein. Bald treten sowohl die ruhenden, wie die in Teilung begriffenen Kerne fixiert und grün gefärbt in den Zellen hervor. Durch Vergleich mit der Figur 250 suchen wir eine Deutung unserer Bilder zu gewinnen, werden freilich finden, daß diese Bilder sehr unvollkommen sind[2]).

Die Wurzelspitzen der Buffbohne (Vicia Faba), die wir an gut fixierten und gefärbten Präparaten untersucht haben, eignen sich auch besonders zum Studium der Wirkungen, welche physikalische und chemische Einflüsse auf das Protoplasma, auf die Kern- und Zellteilung ausüben. So läßt man hohe oder niedere Temperaturen, bestimmte Gase, Salzlösungen, mehr oder weniger starke Gifte eine Zeitlang auf die Wurzelspitzen einwirken, fixiert letztere alsdann, und stellt an gefärbten Schnitten die Folgen der vorausgegangenen Beeinflussung fest[3]). Dieselben Wurzelspitzen lassen sich auch für die Untersuchung der Wirkungen verwerten, welche bestimmte Reize, im besonderen auch Wundreize, auf die Lagerungsverhältnisse der verschiedenen Bestandteile des Protoplasmas aus-

---

[1]) Über die Wirkung des Methylgrüns als Kernfärbungsmittel vgl. S. BECHER. Untersuchungen über Echtfärbung der Zellkerne, Berlin, 1921, S. 164.

[2]) Über Fixierung älterer Zellen, in denen starker Turgordruck herrscht, vgl. Einl. S. 66, ferner Reg. IV Kinoplasma.

[3]) Vgl. d. Bonner Dissertationen von CH. F. HOTTES, 1901, u. F. R. SCHRAMMEN, 1902; ferner B. NĚMEC, zuletzt in Problem d. Befruchtungsvorg., 1910, S. 19 ff. S. a. Å. ÅKERMAN, l. c. 1915—16. Wegen der diesbez. Arbeiten auf tier. Gebiet vgl. das Archiv f. Entwicklungsmechanik d. Organismen.

üben[1]). Auch der Einfluß von Druck und Zug auf die Richtung der Zellteilungen und die Lage der Scheidewände läßt sich an diesem Objekt verfolgen[2]). Für manche Fragestellung kann es sich alsdann empfehlen, die Wurzelspitzen einzugipsen[3]). Will man das ausführen, so gießt man Gipsbrei, den man sich durch Anrühren von gebranntem Gips mit Wasser hergestellt hat, in einen unten geschlossenen, mit arabischem Gummi verklebten Zylinder aus Schreibpapier und steckt die Wurzel in die Masse. Sobald der Gips genügend fest geworden ist, legt man das Ganze in Wasser, wobei sich die Papierhülle leicht entfernen läßt. Auch kann man die Objekte mit etwas Gipsbrei zwischen zwei Glasplatten bringen, diese nach Bedürfnis einander nähern und durch Gummiringe, Bindfaden, Klemmschrauben usw. in ihrer Lage zueinander erhalten. Vor dem Befreien aus der Gipshülle müssen die unter Druck befindlichen Wurzeln fixiert werden, damit der vorhandene Zustand der Zellen unverändert bleibe. Dies erreicht man dadurch, daß man dicht über der Gipshülle die außen befindlichen Teile der Versuchspflanzen abschneidet, die Hülle sodann bis auf einen dünnen Mantel um die Wurzel abschabt und das Ganze für etwa 2—3 Std. in das Fixierungsmittel überträgt. Darauf entfernt man den Gipsmantel und setzt das Fixieren der befreiten Wurzel in üblicher Weise fort.

Objekte, denen sich mit Methylgrün-Essigsäure Teilungsbilder ganz besonderer Art unschwer abgewinnen lassen, bei denen man zudem leicht Teilungen antrifft, stellen die Pollenmutterzellen dar. Da empfehlen sich vor allem die großkernigen Liliaceen, wie Lilium, Fritillaria, Alstroemeria u. a. m. für die Untersuchung. Von großem Vorteil ist es, wenn es Arten sind, die zahlreiche Blütenknospen von verschiedenem Alter gleichzeitig tragen. Welche Knospe das geeignete Material enthält, ergibt sich erst aus ihrer Untersuchung. Man wählt nach Bedarf fortschreitend jüngere oder ältere Knospen aus, bis man den gewünschten Entwicklungszustand erlangt, und verfährt so, daß man die Blütenknospen öffnet, eine Anthere herausnimmt, sie in Methylgrün-Essigsäure auf den Objektträger überträgt, ein Deckglas auflegt und durch Druck auf dieses die Antherenfächer sprengt. Die hervorgetretenen Pollenmutterzellen werden durch die umgebende Flüssigkeit unmittelbar fixiert und gefärbt. Dasselbe Fach kann verschiedene, wenn auch nicht weit abweichende Teilungsstadien enthalten. Außerdem ist der Entwicklungszustand der verschiedenen Antheren in der nämlichen Blüte nicht völlig gleich, so daß dieselbe Blüte eine ganze Reihe von Teilungsbildern liefern kann. Bei ihrer Beurteilung hat man zu beachten, daß die Kernteilungsfiguren in den Sporen-, Pollen- und Embryosackmutterzellen von jenen der Gewebezellen in bestimmter Weise sich unterscheiden. In diesen Mutterzellen findet bei der ersten Teilung eine Reduktion der Chromosomenzahl statt, und zwar so, daß die Chromosomen des Mutterkerns zur Hälfte auf die Tochterkerne verteilt werden. In dem Mutterkern paaren sich die Chromosomen zu je zwei, und treten als solche Paare in die Kernplatte ein.

---

[1]) Vgl. B. Němec, Die Reizleitung und die reizleitenden Strukturen bei den Pflanzen, 1901; G. Haberlandt, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XIX, 1901, S. 569.

[2]) Vgl. im übrigen L. Kny, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXVII, 1902, S. 55; ferner K. Giesenhagen, Studien üb. d. Zellteilung im Pflanzenreiche, 1905.

[3]) W. Pfeffer, Abh. Sächs. Ak. Wiss., Math.-Phys. Kl., Bd. XX, 1893, S. 23.

Hier werden sie getrennt und wandern nach den Polen der Spindel, um die Tochterkernanlagen zu bilden. Die ersten Stadien der Chromosomenpaarung in dem Mutterkern bieten der Beobachtung große

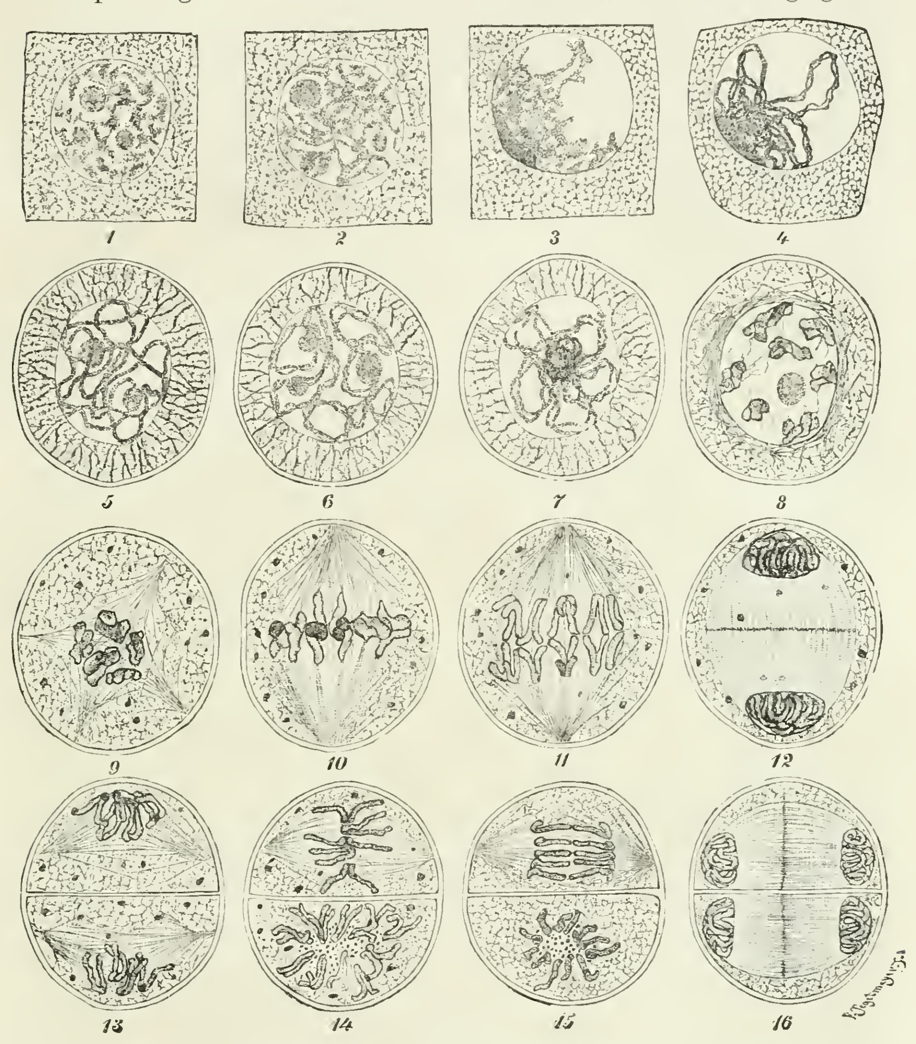


Fig. 254. Pollenmutterzellen einer Lilie in Teilung (etwas schematisiert) nach Fixierung mit Chrom-Osmium-Essigsäure und nach Safranin-Gentianaviolett-Orange- bzw. Eisen-Hämatoxylin-Färbung. *1* Mutterzelle mit ruhendem Kern. *2* Die Sonderung der Chromosomen. *3* als Synapsis bezeichneter Zustand der Zusammenziehung. *4* Doppelfäden in Verschmelzung begriffen. *5* Der aus diesen Fäden entstandene, einen scheinbar einfachen Faden darstellende Knäuel. *6* Wiedererfolgende Trennung der zuvor vereinigten Fäden. *7* Der Knäuel in Segmentierung begriffen. *8* Diakinese. *9* Multipolare Spindelanlage. *10* Mutterkernspindel mit der aus Doppelchromosomen gebildeten Kernplatte. *11* Reduktionsteilung; die auseinanderweichenden Chromosomen eine teilweise Trennung ihrer Längshälften zeigend. *12* Anlagen der Tochterkerne. *13* Die Längshälften der Chromosomen (Tochterchromosomen) werden, zu Paaren verbunden, in die Kernspindeln eingereiht. *14* Tochterkernspindeln. *15* Auseinanderweichen der Tochterchromosomen. *16* Anlage der Enkelkerne. In *13* und *16* Teilungsebene in beiden Tochterzellen die gleiche, in *14* und *15* die Teilungsebenen gekreuzt. Vergr. etwa 800.

Schwierigkeiten[1]). Die Stadien *1—7* unserer Figur 254 stellen sie so vor, wie sie sich aus sehr eingehenden Studien sorgfältig fixierter und gefärbter Präparate ergeben. Bei unserm in Methylgrün-Essigsäure fixierten Objekt wird uns erst das Stadium *8* deutlich entgegentreten, das die Chromosomenpaare an der Kernwandung verteilt zeigt (Diakinese). Die Anlage der Kernspindel vollzieht sich hierauf nicht mit Kappenbildung an den Polen wie in den Gewebekernen, vielmehr entstehen im Umkreis des Kerns zahlreiche Faserbüschel (*8*); dann schwinden Kernwandung und Kernkörperchen; es kommt eine multipolare Spindelanlage (*9*) zustande, aus der schließlich eine bipolare Kernspindel hervorgeht (*10*). Dieses Stadium hält besonders lange an, so daß man fertigen Kernspindeln häufiger als anderen Teilungszuständen in den Präparaten begegnet. In diese Kernspindeln sind die Chromosomenpaare als äquatoriale Kernplatte eingereiht.

Auch Stadien wie *11*, die den Beginn des Auseinanderweichens der Chromosomen zeigen, werden wir öfters antreffen. Auf diesem Stadium bekommen die Chromosomen eine V-förmige Gestalt und zwar deshalb, weil in jedem von ihnen eine Längsspaltung vorbereitet ist, und ihre beiden Längshälften jetzt z. T. sich trennen. Wie dieser Zustand lehrt, gelangen die beiden Längshälften jedes Chromosoms, die sonst auf zwei Tochterkerne verteilt werden, bei dieser Teilungsart in denselben Tochterkern. In diesen Tochterkernen (*12*) wird ein zweiter Teilungsschritt rasch eingeleitet (*13*, *14*), von dem sich nachweisen läßt, daß er zur Trennung jener Längshälften der einzelnen Chromosomen führt, die im ersten Teilungsvorgang schon vorbereitet waren. Es erfolgt somit jetzt die Verteilung dieser Längshälften auf die Enkelkerne (*15*, *16*). — Den ersten Teilungsvorgang, der die Trennung ganzer Chromosomen besorgt, bezeichnet man als Reduktionsteilung oder heterotypische Teilung, den zweiten als homöotypische, weil er nicht mit Produkten einer eigenen Längsspaltung von Chromosomen operiert, vielmehr mit Längshälften, die ihm der vorausgehende Teilungsschritt lieferte. Die Vorgänge, die sich bei diesem homöotypischen Teilungsschritt abspielen, stimmen im übrigen mit jenen einer gewöhnlichen Kernteilung nahe überein und sollen uns durch die Bilder *13—16* der Fig. 254 verdeutlicht werden. In *13* sieht man die Anlage, in *14* die Fertigstellung der Tochterkernspindeln, in *15* ist die Teilung der Kernplatte, in *16* die Anlage der Enkelkerne vollzogen. Daß die beiden Teilungsschritte rasch, oft fast unmittelbar aufeinanderfolgen, gehört zu den charakteristischen Merkmalen des Vorgangs. Der heterotypischen und der homöotypischen Kernteilung, die man als allotypische und auch als meiotische (Meiosis) Teilungen zusammenfaßt, kann man die gewöhnliche Kernteilung als typische gegenüberstellen; letztere wird auch somatische genannt. Der meiotischen Kernteilung gleichende Erscheinungen stellen sich ebenfalls im Tierreich auf entsprechenden Entwicklungszuständen ein. — Die Aufgabe der Reduktionsteilung besteht u. a. darin, die Menge der Chro-

[1]) Daher auch die abweichenden Ansichten über das Zustandekommen der Chromosomenpaare, welche u. a. J. B. FARMER und seine Schüler vertreten. Vgl. zu den Kern- und Zellteilungsvorgängen die Lit. in E. STRASBURGER, Progress. rei bot., Bd. I, 1907, ferner bei H. LUNDEGÅRDH bzw. G. TISCHLER, l. c. 1921—22.

mosomen, welche durch den Befruchtungsvorgang verdoppelt (diploid) wird, wieder auf die einfache (haploide) Zahl zurückzuführen.

Bei Untersuchung von Pollenmutterzellen der Lilien wird man 12 Chromosomenpaare in der Kernplatte der Reduktionsspindel zählen können; die Pollenmutterzellen von Lauch- (Allium-) Arten hätten hingegen beispielsweise nur 8 solche Paare ergeben. Demgemäß würde man in den Gewebezellen der Lilien 24, in den der Allium-Arten 16 Chromosomen zu erwarten haben. Da Allium ebenfalls in die Familie der Liliaceen gehört, so geht daraus hervor, daß die Chromosomenzahlen in derselben Pflanzenfamilie nicht übereinzustimmen brauchen. Auch kann in den vegetativen Zellen ein und derselben Art die Zahl der Chromosomen schwanken, während in den Geschlechtszellen die jeweilige Zahl konstant zu bleiben scheint[1]).

Beim Zerdrücken entsprechend alter Antheren in Methylgrün-Essigsäure stellt man weiter fest, daß die Anlage der Tochterkerne und die Bildung der Scheidewände in der Mutterzelle ähnlich wie in vegetativen Gewebezellen sich vollzieht (*12, 16*).

Die in Fig. 254 zum Vergleich mit unseren Beobachtungen vorgeführten Bilder sind Objekten entnommen, die mit Chrom-Osmium-Essigsäure fixiert, in Paraffin eingebettet, mit dem Mikrotom geschnitten und mit Safranin-Gentianaviolett-Orange bzw. Eisen-Hämatoxylin gefärbt wurden. Sie sind daher weit vollkommener als das, was uns die unmittelbare Methylgrün-Essigsäure-Fixierung und -Färbung der durch Druck isolierten Pollenmutterzellen bieten konnte.

Daß die an fixierten Objekten gewonnenen Bilder der Kern- und Zellteilung nicht Kunstprodukte sind, lehrten uns schon unsere Beobachtungen an den Tradescantia-Haaren. Noch weit vollkommener kann man diese Teilungen im lebenden Zustand innerhalb des von uns schon untersuchten Embryosacks von Monotropa (S. 618) sehen. Man unterscheidet ohne weiteres die Kernplatte in der großen Kernspindel, die der Endospermkern bei seiner ersten Teilung bildet. Unter dem Einfluß des Wassers bzw. der 5-proz. Zuckerlösung, in der die Beobachtungen angestellt wurden, stirbt diese Kernfigur ganz langsam ab und offenbart dabei alle ihre Strukturen, von denen man somit bestimmt feststellen kann, daß sie vorgebildet sind[2]). Andererseits ist sicher, daß manche Granulationen, netzartige Strukturen und anderweitige Erscheinungen an fixierten Objekten durch die fixierende Flüssigkeit veranlaßt worden sein können, wie das im besonderen Alfr. Fischer nachgewiesen hat[3]).

Um die Vorgänge kennenzulernen, wie sie sich in den Pollenmutterzellen der Dikotylen abspielen, wählen wir am besten eine Ranunculacee oder Papaveracee für die Untersuchung aus. Wir wollen uns im folgenden an Helleborus foetidus halten; im wesentlichen werden auch andere Dikotylen ähnliche Verhältnisse

[1]) Vgl. u. a. G. Tischler, Progress. rei bot., Bd. V, 1915, S. 164 ff.; ferner M. Ishikawa, Bot. Magaz., Tokio, Bd. XXX, 1916, S. 404 ff., und Hans Winkler, Zeitschr. f. Bot., Bd. VIII, 1916, S. 417 ff.

[2]) E. Strasburger, Bot. Ztg., LVIII. Jahrg., 1900, Sp. 299; ferner K. Shibata, Flora, Bd. XC, 1902, S. 62, und Biol. Zentralbl., Bd. XXII, 1902, S. 705 ff.

[3]) A. Fischer, Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas, 1899. S. a A. Meyer, l. c. 1920, S. 463 ff.

bieten. In einer Blütenknospe, die mit Stiel 8—10 mm Höhe mißt, finden sich meist, von innen nach außen fortschreitend, alle Zustände der Teilung in den aufeinanderfolgenden Antheren vertreten. Wir zerdrücken auch hier die Antheren in Methylgrün-Essigsäure und erhalten dieselben Bilder wie bei Liliaceen. Nach dem ersten Teilungsschritt des Mutterkerns wird in den Verbindungsfäden eine Zellplatte angelegt, aber wieder aufgelöst, während sich die Zellkerne zum zweiten Teilungsschritt vorbereiten. Das Bild des zweiten Teilungsschrittes entspricht ganz dem ersten. Zwischen den Kernpaaren sind Verbindungsfäden ausgespannt. Die vier Kerne ordnen sich in der kugeligen Mutterzelle nach den vier Ecken eines Tetraëders an (Fig. 255 *A*), worauf neue Verbindungsfäden frei im Zytoplasma nach allen Richtungen zwischen den vier Kernen hinzugebildet werden. So kommen zu den beiden zuvor vorhandenen Komplexen von Verbindungsfäden vier neue hinzu. In diesen sechs Komplexen entstehen Zellplatten (*B*). Letztere sind deutlich zu sehen; die Verbindungsfäden aber nur in den günstigsten Fällen zu unterscheiden. Die sechs Zellplatten stoßen in der Mitte der Mutterzelle zusammen. An der dicken Wand der Mutterzelle sind sechs innere, etwas vorspringende Leisten erzeugt worden, und an diese setzen die Zellplatten mit ihren Außenrändern an. In den Zellplatten werden alsbald Zellulose-Wände erzeugt, und so ist die Mutterzelle in vier tetraëdrisch angeordnete Tochterzellen zerlegt (*A*). Diese vier Zellen erhalten alsbald eigene Wände, während die Mutterzellwand aufgelöst wird.

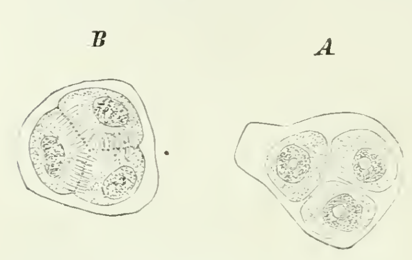


Fig. 255. Helleborus foetidus, Pollenmutterzellen bei *A* nach vollzogener Vierteilung, bei *B* in Vierteilung begriffen. Vergr. 540.

Nicht immer verlaufen die Kern- und Zellteilungsvorgänge in den Pollenmutterzellen so regelmäßig wie eben geschildert. Dadurch, daß einzelne Chromosomen nicht in die Tochterkernanlagen einbezogen werden, können sog. überzählige Tetraden entstehen; die einzelnen Chromosomen bzw. Chromosomengruppen bilden dann für sich Kerne, von denen jeder einen ihm eigenen Plasmaanteil erhält. Derartige überzählige Tetraden werden z. B. bei der Pollenentwicklung von Hemerocallis fulva gebildet[1]).

Für eingehende Kernteilungs-Studien eignen sich auch sehr die protoplasmatischen Wandbelege solcher Embryosäcke, die durch simultane Zellbildung die erste Wandschicht ihres Endosperms bilden. Obenan stehen hier wieder die Monokotylen, und mit das günstigste der bekannten Objekte ist die Kaiserkrone, Fritillaria imperialis. Um sich das nötige Untersuchungsmaterial zu beschaffen, legt man aufgeschnittene Fruchtanlagen im Monat Mai in Alk. abs.; andere Fixierungsmittel sind außerdem zu versuchen. Die erwünschten Fruchtanlagen mögen 30—40 mm (ohne Stiel) messen. — Nach vollzogener Härtung kann das Objekt weiter behandelt werden. Zu diesem Zweck legen wir die in Alkohol fixierten Früchte erst

[1]) Vgl. u. a. H. O. JUEL, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXX, 1897, S. 205 ff. S. a. die Literaturzusammenstellung bei G. TISCHLER, Arch. f. Zellforschg., Bd. V, 1910, S. 622 ff.

24 Std. lang in ein Gemisch von Alkohol und Glyzerin zu gleichen Teilen, nehmen dann einige Samenanlagen heraus und halbieren sie der Länge nach zwischen den Fingern. Beide Hälften übertragen wir in einen Tropfen des Alkohol-Glyzerin-Gemisches unter dem Präpariermikroskop und versuchen den protoplasmatischen Wandbeleg aus den als schüsselförmige Mulden sich zeigenden Embryosackhälften mit den Nadeln zu befreien. Meist gelingt das ohne große Mühe, öfters, namentlich während der Teilungsstadien, erhält man nur kleinere Stücke. Den befreiten Wandbeleg legen wir in Wasser, um alles Glyzerin aus ihm zu entfernen, und färben ihn auf dem Objektträger, um ihn weiter, mit Einhaltung der üblichen Vorschriften, in Balsam einzubetten. Wir können andererseits auch versuchen, die ganzen, oder besser noch, die halbierten Samenanlagen in Paraffin einzubetten, dann zu schneiden und zu färben. Wir haben von manchen Objekten vorteilhafte Färbungen mit Hämatoxylin-Safranin[1]) erhalten. Wir färbten zuerst schwach mit sehr verd. Delafields schem Hämatoxylin, wuschen dann gut in Wasser, hierauf in schwach angesäuertem Alkohol aus und färbten in gewohnter Weise mit alkohol. Safraninlösung. — So gefärbte Präparate lassen sich mit Vorteil in grünem Licht untersuchen, wo sie wie mit Tinte gezeichnet erscheinen. Man stellt sich das grüne Licht durch Einschalten grüner, homogenes Licht gebender Gläser zwischen Spiegel und Objekt, etwa auf dem Diaphragma, her[2]).

Finden wir in dem Embryosack, den wir untersuchen, die Gewebeanlage des Endosperms bereits vor, so führen wir in dieser oder jener Weise zarte Längsschnitte durch die Samenanlage aus und färben die Gewebe-Partien ähnlich wie zuvor den Wandbeleg.

Man wird in dem protoplasmatischen Wandbeleg die Zellkerne meist im Ruhestadium finden. Hat es der Zufall gefügt,

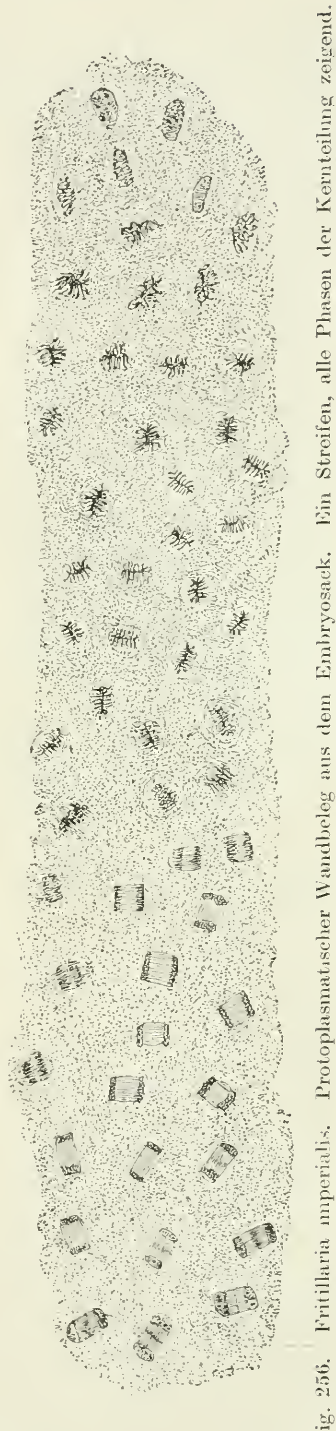


Fig. 256. Fritillaria imperialis. Protoplasmatischer Wandbeleg aus dem Embryosack. Ein Streifen, alle Phasen der Kernteilung zeigend. Vergr. 90.

[1]) Nach C. Rabl, Morph. Jahrb., Bd. X, 1885, S. 215.

[2]) Th. W. Engelmann, Pflügers Archiv f. Physiol., Bd. XXIII, S. 507, Anm. 2.

daß man auf Teilungszustände traf, so stehen diese gleich in Fülle zur Verfügung, da im ganzen Wandbeleg die Teilungen sich gleichzeitig abspielen. Man hat dann Hunderte von Teilungsstadien vor Augen. Die Teilungen schreiten in bestimmter Richtung fort, so daß man in demselben Präparat alle Teilungszustände vereinigt finden kann (Fig. 256). — Die Zellkerne sind auffallend groß und lassen sich schon bei schwacher Vergrößerung studieren; um die Einzelheiten, auf die es hier ankommt, zu sehen, muß man freilich zu den stärksten und leistungsfähigsten Vergrößerungen und den besten Beleuchtungsmitteln seine Zuflucht nehmen.

Der protoplasmatische Wandbeleg des Embryosacks hat nur eine sehr geringe Dicke. An fixierten Präparaten erscheint er als feines, beiderseits mit Hautschicht abgegrenztes Wabenwerk von Zytoplasma, in dem zahlreiche Kerne gleichmäßig verteilt sind. Dieser Wandbeleg ist überall, wo er einen Kern birgt, angeschwollen.

Unter zahlreichen Präparaten werden sich wohl auch solche finden, die den Augenblick zeigen, in dem die bisher frei im protoplasmatischen Wandbeleg sich vermehrenden Kerne durch Scheidewände getrennt werden, wobei der Wandbeleg durch sog. Vielzellbildung in einzelne Zellen zerfällt. Diese Vorgänge der Zellbildung sind von jenen der Zellteilung nicht prinzipiell verschieden und mit allen anderen Vorgängen, bei denen gleichzeitig mehr als zwei Zellen entstehen, von der Zweiteilung abzuleiten. Man kann sich vorstellen, daß hier die Entwicklung abgekürzt und Zwischenstufen übersprungen worden sind, so daß, statt fortgesetzter Teilungsschritte, ein sonst aus diesen erst hervorgehender Zustand sofort sich einstellt. — Diese Zustände der Vielzellbildung sind bei Fritillaria imperialis nicht ohne Mühe freizulegen, da ein in Zellbildung begriffener Wandbeleg leicht in kleine Stücke zerfällt. Einzelne Stücke des Präparats werden immerhin den Vorgang deutlich in allen Übergangsstadien zeigen. Da wird es auffallen, daß das Zytoplasma um die Kerne sich mehr oder weniger deutlich in radiale Streifen differenziert, und so Verbindungsfäden entstehen, in denen sich Zellplatten bilden. Diese Verbindungsfäden sind vornehmlich in den Zonen sichtbar, welche die Zellplatten erzeugen sollen, doch auch dort nicht immer deutlich. In den Zellplatten entstehen quellbare Scheidewände, und nun erscheinen die Plasmapartien durch diese getrennt. Oft kommen mehrere Kerne in eine solche Plasmapartie zu liegen und werden durch nachträglich eingeschaltete Wände voneinander getrennt. In anderen, entsprechenden Fällen, so bei Corydalis cava und Ranunculus acer[1]), verschmelzen die in einem Zellraum eingeschlossenen Zellkerne alsbald zu einem einzigen, der sich durch seine Größe auszeichnet. — Wie bei Monotropa (S. 618, 677) lassen sich auch bei Fritillaria die Teilungsvorgänge im Embryosack an lebendem Material untersuchen. Man präpariert zu dem Zweck vorsichtig den Wandbeleg heraus und bringt ihn in einen Tropfen ausgepreßten und filtrierten Zellsafts derselben Pflanze, dem man zweckmäßig 1 $^0/_0$ Trauben- oder Fruchtzucker zusetzt[2]).

Die strahlenförmige Anordnung des Zytoplasmas um die Kerne im Augenblick der Zellbildung ist bei den Monokotylen meist nicht scharf ausgeprägt; viel auffallender tritt sie uns bei den Dikotylen entgegen.

---

[1]) Nach P. SCHÜRHOFF, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LV, 1915, S. 499, der auch vegetative, normal auftretende Kernverschmelzungen in den Sproßspitzen von frisch gestochenem Spargel feststellen konnte (s. Flora, Bd. CIX, 1916, S. 55).

[2]) Nach O. SAAME, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXIV, 1906, S. 302.

Hier würden sich beispielsweise zur Untersuchung Reseda odorata, Agrimonia Eupatoria oder eine Ranunculacee empfehlen. Die Präparation ist nicht anders als bei Fritillaria imperialis auszuführen. Die in Alk. abs. gehärteten Samenanlagen werden der Länge nach halbiert, und der Wandbeleg mit Nadeln unter dem Präpariermikroskop freigelegt. Die Präparate sind in derselben Weise wie dort zu färben. — Die Kernfiguren zeigen nur geringe Größe, namentlich die Kernplatte der Kernspindel ist sehr flach und scheint nur aus einer Stäbchenreihe zu bestehen. Daß der Bau dieser Kernplatte trotzdem jenem ähnlich ist, wie wir ihn bei den Teilungsschritten im protoplasmatischen Wandbeleg von Fritillaria angetroffen haben, davon kann man sich bei eingehendem Studium der Präparate überzeugen. Die Spindelfasern zeichnen sich, der geringen Größe der Kernspindeln ungeachtet, relativ deutlich. Während der Zellbildung ist die Strahlung um die Zellkerne sehr schön (Fig. 257). Der Vorgang schreitet in bestimmter Richtung innerhalb des Wandbelegs fort und kann so in seiner ganzen Entwicklung verfolgt werden. — An Querschnitten durch entsprechende Samenanlagen ist festzustellen, daß die radialen Scheidewände, die zwischen den Kernen des Wandbelegs bei der Vielzellbildung im Embryosack entstehen, an der inneren Hautschicht des Wandbelegs blind endigen. Der nächstfolgende Teilungsschritt im Wandbeleg liefert Teilungsfiguren, deren Längsachse radial orientiert ist; die zwischen den Schwesterkernen entstehenden Scheidewände sind tangential gerichtet und setzen an die zuvor erzeugten radialen Trennungswände rechtwinklig an.

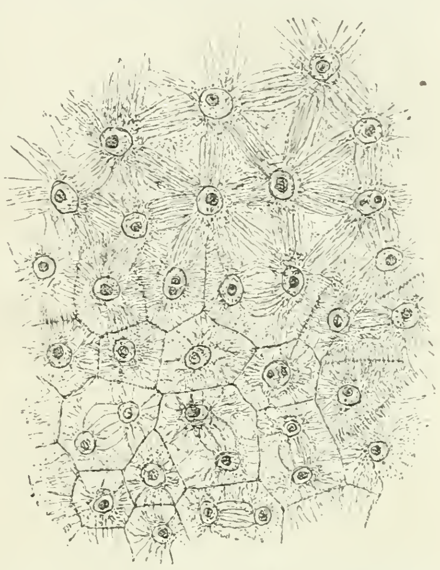


Fig. 257. Reseda odorata. Protoplasmatischer Wandbeleg des Embryosacks zu Beginn der Vielzellbildung. Vergr. 240.

Die Struktur des Zytoplasmas haben wir an den bisher beobachteten Objekten nicht eingehender studiert. Die Frage, ob das Zytoplasma eine schaumartige Struktur, sog. Wabenstruktur, besitze oder aus feinen Fäden aufgebaut sei, ist in der Tat nicht leicht zu entscheiden. Bei manchen Objekten ist an einer wabenartigen Struktur, bei anderen an einer Fadenstruktur nicht zu zweifeln. Weit verbreitet ist die Annahme, daß beide Strukturen zugleich dem Zytoplasma eigen sind, und zwar, daß dem aktiven Zytoplasma, das Kinoplasma genannt wird und das die formativen Vorgänge leitet, die Spindelfasern, die Verbindungsfäden, auch die Hautschicht und die Kernwandung bildet, Fadenstruktur zukommt, während das besonders die Ernährungsvorgänge vermittelnde Zytoplasma, das als Nahrungsplasma oder Trophoplasma bezeichnet wird, Wabenstruktur besitzt[1]). Es gilt, solche Untersuchungen an Objekten, die gut fixiert und tingiert

[1]) Vgl. hierzu u. a. O. Schultze, Sitzber. d. phys.-med. Ges. Würzburg. 1915, S. 81 ff. S. a. A. Meyer, Analyse d. Zelle, 1920, S. 463 ff.

sind, anzustellen und dabei Mikrotomschnitte von nicht mehr als 2 μ Dicke zu verwenden.

In mancher Beziehung abweichende Vorgänge der Zellteilung treffen wir bei den Spirogyra-Arten[1]). Wir sollten aber zur Beobachtung nur solche Arten wählen, die einen großen zentralen Zellkern besitzen. Dieser Kern ist von einer Zytoplasmaschicht umgeben und auf feinen Zytoplasmafäden im Zelleib suspendiert. Die Zellen der Spirogyren haben nämlich, wie wir schon feststellen konnten (S. 403), einen von Zellsaft erfüllten Saftraum, und mitten in diesem Saftraum ist der Zellkern aufgehängt. Die Spirogyren teilen sich meist zwischen 11 und 1 Uhr nachts; bringt man jedoch die Pflanzen des Abends in einen Raum, dessen Temperatur sich um + 4° hält, so erfolgen die Teilungen nicht und treten erst am nächsten Morgen ein, wenn die Pflanzen in einen wärmeren Raum übertragen werden. So kann man die Teilung nach Wunsch auf den Tag verlegen. In Spirogyren mit zentralem Kern erscheint dieser bei normaler Lage flach spindelförmig oder rechteckig. In allen Fällen ist er scheibenförmig, wie man durch Druck auf die Zelle, der den Zellkern aus seiner Lage bringt, feststellen kann. Wir halten uns im folgenden an eine flachkernige Art; die breitkernigen zeigen nur insofern ein abweichendes Verhalten, als ihre Kernwandung länger erhalten bleibt und die Kernplatte nicht den ganzen Querdurchmesser des Kerns in Anspruch nimmt. Den sonstigen Teilungsvorgängen in der Zelle geht, wie freilich nur an fixierten Objekten sicherzustellen ist, die Teilung der in den Chlorophyllbändern vorhandenen Pyrenoide (s. S. 403) voraus. Der fortschreitenden Teilung der einzelnen Pyrenoide folgt eine Spaltung der an sie ansetzenden Plasmafäden, jener Plasmafäden, an denen der Kern im Saftraum suspendiert ist[2]). Die Suspensionsfäden erfahren auf diese Weise eine dauernde Gabelung an ihrem Ende. Ein Kern, der in Teilung eintreten soll, nimmt an Dicke zu, und das Zytoplasma sammelt sich an seinen beiden Endflächen an. Man sieht die Mikrosomen innerhalb dieser Ansammlung in lebhafter Bewegung begriffen und das Zytoplasma selbst in Stränge gesondert, die senkrecht die beiden Seitenflächen des Kerns treffen. Der Kern besitzt ein, selten zwei große Kernkörperchen, die alsbald unkenntlich werden. Er nimmt noch mehr an Dicke zu, und es wird hierauf in seinem Äquator eine stark lichtbrechende Kernplatte sichtbar. Zu deren beiden Seiten erscheint das Plasma in feine Stränge differenziert. Diese Stränge sind die Spindelfasern. Sie konvergieren kaum nach den Polen. — In den so zur Teilung sich anschickenden Zellen sind die Mikrosomen auch an der Wand in lebhafter Bewegung begriffen; sie werden durch Ströme geführt, die sich vornehmlich an und zwischen den Chlorophyllbändern bewegen. Um die Zeit, wo die Kernspindel ausgebildet wird, etwa 45 Min., nachdem die ersten Veränderungen am Kern sich zeigten, bemerkt man eine beginnende Ansammlung

---

[1]) E. Strasburger, Zellb. u. Zellt., 3. Aufl., 1880, S. 172; Über den Teilungsvorgang d. Zellk., 1882, S. 49; Die Kontroversen der Kernteilung, 1884, S. 50; auch Archiv f. mikr. Anat., Bd. XXI u. XXIII; W. Flemming, Zellsubst., Kern- u. Zellt., 1882, S. 315; E. Strasburger, Histol. Beitr., Heft 1, 1888, S. 3; J. W. Moll, Verh. d. Akad. d. Wetenschappen, Amsterdam, Tweede Sectie. Deel I, Nr. 9, 1893; L. Mitzkewitsch, Flora, Bd. LXXXV, 1898, S. 81; C. van Wisselingh, Bot. Ztg., LVI. Jahrg., 1898, I. Abt., S. 195; Flora, Bd. LXXXVII, 1900, S. 355. S. a. M. L. Merriman, Bot. Gaz., Bd. LXI. 1916, und die Lit. auf S. 684 dieses Praktikums.

[2]) Nach V. Chmielewski, Über Bau und Vermehrung der Pyrenoide bei einigen Algen (russisch), 1896.

von Zytoplasma im Äquator der Zelle. Der Wandbeleg der Zelle wird hier ringförmig verdickt. Diesen verdickten Stellen führen die Zytoplasmaströme immer reichlicheres Material von Mikrosomen zu. Plötzlich wird innerhalb des Zytoplasmarings an der Wand der Zelle eine feine Linie sichtbar, und ein Teil der Mikrosomen ordnet sich in zwei Reihen dieser Linie entlang an. Die feine Linie ist die Anlage der Scheidewand. Diese Scheidewand wächst in ihrer inneren Kante weiter, leistenförmig in das Innere der Zelle vordringend. Der Plasmaring bleibt stets an der inneren Kante dieser vordringenden Wand; die Chlorophyllbänder werden von ihr einwärts gedrückt. — Inzwischen haben sich weitere Veränderungen im Kern vollzogen. Etwa 15 Min. nach Ausbildung der Kernplatte spaltet sich diese, und es beginnt das Auseinanderweichen ihrer beiden Hälften. Das geht so rasch vor sich, daß die Bewegung unmittelbar zu verfolgen ist. Der Raum zwischen den beiden auseinanderweichenden Kernplattenhälften ist von zarten Fäden durchsetzt; es sind das die Verbindungsfäden. Zwischen den Rändern der beiden scheibenförmigen Tochterkernanlagen ist eine zusammenhängende Zytoplasmaschicht als Verbindungsschlauch ausgespannt, wodurch die ganze Figur eine tonnenförmige Gestalt erhält. Dieses tonnenförmige Gebilde ist an seinen Endflächen im Zellumen suspendiert, es schwankt nicht unerheblich hin und her, und zwar bald nach der einen, bald nach der anderen Seite. Die Verbindungsfäden zwischen den Tochterkernanlagen verschmelzen alsbald zu wenigen, dicken Fäden, die sich bogenförmig nach außen krümmen. Dieses Stadium kann schon 8—10 Min. nach Beginn des Auseinanderweichens der beiden Kernplattenhälften erreicht sein. In den Verbindungsfäden wird oft vor deren Verschmelzen und Auseinanderweichen eine äquatoriale Ansammlung körniger Substanz sichtbar. Die Tochterkernanlagen weichen nur noch ganz langsam auseinander. Es mögen so $1^3/_4$ Std. seit Beginn der ersten Veränderungen am Kern verflossen sein; die Scheidewand ist auf ein Viertel des Halbmessers in die Zelle vorgedrungen. Der Verbindungsschlauch wölbt sich immer stärker nach außen und erreicht alsbald die ringförmige Zytoplasma-Ansammlung am Rand der vordringenden Scheidewand; er verschmilzt mit diesem Ring. Das pflegt etwa 2 Std. nach Beginn der geschilderten Vorgänge zu erfolgen. Die Tochterkernanlagen schwellen jetzt an, und in ihrem Innern treten stärker das Licht brechende Substanzmassen auf. Es sind das die sich differenzierenden Nukleolen. Deren Substanz sammelt sich schließlich meist zu einer einzigen Kugel in der Mitte der immer stärker anschwellenden Kernanlage an. Letztere wird bikonvex und erhält allmählich das Aussehen des Mutterkerns, dem sie entstammt. — Der Ring an dem inneren Rand der vordringenden Scheidewand hat an Dicke zugenommen. Die Chlorophyllbänder werden alsbald durch den Ring durchbrochen und ziehen sich nach den durch die neue Scheidewand erzeugten Winkeln zurück. Der Verbindungsschlauch wird nach dem Innern der Zelle gedrängt; er bekommt eine sanduhrförmige Gestalt. Schließlich treffen die inneren Ränder des Rings aufeinander und bilden eine Platte, in der wir den fehlenden Teil der Scheidewand rasch entstehen sehen. So wird die ringförmig von außen nach innen vordringende Membranleiste der Spirogyren zu einer geschlossenen Scheidewand ergänzt, durch welche die beiden entstandenen Schwesterzellen getrennt werden. Der zusammengeschnürte und schließlich durchschnittene Verbindungsschlauch verwandelt sich in einen Strang, der einerseits an die neue Scheidewand, andererseits an die ihr zugewandte

Seite der Tochterkerne ansetzt. Das bei der Scheidewandbildung nicht verbrauchte, mikrosomenreiche Zytoplasma wandert an diesem Strang nach den jungen Kernen und an deren Aufhängefäden weiter, den Seitenwänden der Zellen zu. Die beiden jungen Kerne rücken nur langsam in die Mitte ihrer Zellen ein. — Der ganze Teilungsvorgang von den ersten Veränderungen am Zellkern bis zur Fertigstellung der Scheidewand nimmt etwa 4 Std. in Anspruch.

Um Spirogyren eingehend auf Kern- und Zellteilung zu studieren, sind sie in der S. 404 ff. schon angegebenen Weise zu fixieren und zu färben, dann unter Umständen auch nach dem ebenfalls schon (S. 421) geschilderten Verfahren zu schneiden. Empfohlen wurde auch, um Einblick in den Bau der Kernteilungsfiguren von Spirogyra zu gewinnen, diese mit Chrom-Osmium-Essigsäure zu fixieren und das so fixierte Material während der Beobachtung mit 50-proz. Chromsäurelösung, unter Umständen auch mit einer noch stärkeren oder schwächeren Lösung zu behandeln. Dabei werden die verschiedenen Bestandteile der Teilungsfigur nacheinander gelöst. Vielfach erschien es von Vorteil, die Präparate nach hinreichender Einwirkung der Chromsäure vorsichtig in Wasser auszuwaschen und mit „Brillantlackblau G extra“ = „Brillantblau extra grünlich“ zu färben, ferner lebendes Material der Wirkung giftiger Lösungen, wie Kaliumnitrat, Chloralhydrat, Phenol in verschiedener Konzentration, dabei zweckmäßig mit Eosin gefärbt, auszusetzen[1]).

Werden in Teilung begriffene Spirogyren, deren Kern annähernd das Spindelstadium erreicht hat, auf dem Objektträger für wenige Min. einer Temperatur von etwa -4^0 ausgesetzt, wobei der Beobachtungstropfen nicht gefrieren darf, so geht hierauf im warmen Raum die Kern- und Zellteilung, oder auch nur die letztere, weiter vonstatten[2]). Bei der Abkühlung hat die Kernteilungsfigur meist eine Verschiebung erfahren, und so kommt es, daß sie auf eine Seite der sich weiterbildenden Scheidewand zu liegen kommt. Man erhält so eine Tochterzelle mit zwei Kernen und eine ohne Kern. Ist die Kernteilung nach der Abkühlung nicht fortgeschritten, sondern rückgängig gemacht worden, so ist eine Tochterzelle dann ohne Kern, die andere mit relativ großem Kern von besonderem Aussehen ausgestattet, der aber allmählich seinen normalen Habitus zurückerlangt. Der eine, bzw. die beiden Kerne der einen Tochterzelle rücken in deren Mitte. Sind sie in Zweizahl vorhanden, so stellen sie sich dort an der Wand der Zelle an zwei entgegengesetzten Stellen der Äquatorialebene auf. Ist ein Kern vorhanden, so zeigt er sich wie sonst im Saftraum suspendiert. Es kommt vor, daß der in Einzahl vorhandene Kern, der dem Zurückgehen der Teilung seine Entstehung verdankt, sich auf direktem Wege dann in zwei Kerne teilt. — Werden solche Fäden von Spirogyra, welche kernlose Zellen enthalten, weiter kultiviert, so stellt sich heraus, daß das Längenwachstum der kernlosen Zellen nur ganz unbedeutend ist. Die Terminalwände pflegen sich in die benachbarten Zellen vorzuwölben. Die kernlose Zelle behält die Fähigkeit, Stärke in ihren Chlorophyllbändern zu

---

[1]) C. van Wisselingh, Bot. Ztg., LVI. Jahrg., 1898, I. Abt., S. 198; Ebenda, LX. Jahrg., 1902, S. 120; ferner LXI. Jahrg., 1903, S. 209, und Beih. z. bot. Zentralbl., I. Abt., Bd. XXXVIII, 1921, S. 274 bzw. 286 ff.

[2]) J. Gerassimoff, Bull. d. l. soc. d. Nat. d. Moscou, 1890, S. 548; 1892, S. 191; 1896, S. 477; 1898, S. 1; 1899, S. 220; 1901, S. 185. Vgl. in diesen Aufsätzen auch die Literatur über das Verhalten kernloser Zellen.

bilden[1]). Nach einiger Zeit beginnen aber Unregelmäßigkeiten in der Anordnung der Chlorophyllbänder bemerkbar zu werden; diese fangen an zu schrumpfen; die Widerstandsfähigkeit der Zelle nimmt ab, sie werden besonders leicht von parasitischen Organismen befallen; auch wenn letzteres nicht geschah, pflegt jede kernlose Zelle in etwa 6 Wochen abzusterben, nachdem zuvor schon ihre vorhin vorgewölbten Terminalwände sich eingewölbt haben. Die mit einem Überschuß an Kernmasse ausgestatteten Zellen werden bei sonst günstigen Bedingungen in ihrer Entwicklung gefördert[2]). — Durch die fortgesetzte Teilung der mit großem Kern oder mit zwei Kernen versehenen Zellen kann andererseits eine ganze Reihe solcher Zellen entstehen. — In seltenen Fällen kann es bei Spirogyra auch vorkommen, daß in einer Zelle, deren Kern sich teilt, auf einmal zwei Scheidewände sich bilden. Sind diese Scheidewände einander genähert, so entsteht eine kurze, mittlere Zelle ohne Kern und zwei seitliche mit je einem Kern. Stehen die beiden Scheidewände weiter auseinander, so können sie eine mittlere, zweikernige und zwei seitliche, kernlose Zellen schaffen. Durch Verschiebung der Kernfigur während der Scheidewandbildung kann auch die eine Seitenzelle und die Mittelzelle mit Kern bedacht werden, die andere Seitenzelle kernlos ausgehen. Werden endlich, was auch vorkommt, drei Scheidewände auf einmal in der Zelle erzeugt, so müssen zwei von den erzeugten vier Zellen ohne Kern bleiben.

Will man sich größere Mengen von Spirogyra mit kernhaltigen und kernlosen Zellen für spätere Beobachtungen beschaffen, so verfährt man folgendermaßen. Man entnimmt mehrere in Teilung begriffene Fäden einem Gefäß und überträgt sie in kleine Gefäße aus dünnem Glas, die mit demselben Wasser gefüllt sind, dem man die Fäden entnahm. Diese Gefäße werden in Schnee und feingestampftes Eis versenkt, denen man etwas Kochsalz zusetzt, und so abgekühlt. Ein Thermometer zeigt den Grad der Abkühlung an. Nach Beendigung der Abkühlung werden die Gefäße auf dem gewohnten Platz am Fenster aufgestellt, wo sie sich allmählich bis zur Zimmertemperatur erwärmen[3]). — Auch durch Anästhesieren sind ähnliche Resultate wie durch niedere Temperaturen zu erlangen. Dabei werden zu 100 ccm Wasser, das zur Kultur der Algen diente, 0,25—1,5 ccm konz. Chloralhydratlösung, oder 0,42—2,5 ccm Äther, oder 1,25—7,5 ccm Chloroform zugesetzt. Die Flüssigkeit schüttelt man sorgfältig durch und setzt in sie Fäden, die in Teilung befindliche Zellen aufweisen, für 15 Min. bis zu einigen Std. ein. Darauf werden die Fäden wieder in das gewohnte Kulturwasser übergeführt[4]). — Durch Ätherlösung werden die Kernteilungsbilder bei Spirogyra z. T. so beeinflußt, daß sie das Aussehen direkter, d. h. amitotischer Kernteilungen gewinnen[5]). Diese Beobachtungen wurden in Glaskammern ausgeführt, die eine bis zu 2 mm hohe Schicht von 1-proz. Ätherwasser enthielten. Die Glaskammern bestanden aus einer dem Objektträger mit Vaselin aufgekitteten Glasplatte mit kreisförmiger, 3 cm Durchmesser zeigender Öffnung. Diese wurde mit einem Deckglas verschlossen,

---

[1]) Vgl. auch G. Klebs, Biol. Zentralbl., Bd. VII, 1888, S. 167, und Unters. a. d. Bot. Inst. zu Tübingen, Bd. II. 1886, S. 551.

[2]) J. Gerassimoff, Zeitschr. f. allgem. Physiol., Bd. I, 1902, S. 220. Vgl. dazu auch Derselbe, Bull. soc. imp. des Naturalistes de Moscou, 1904, Nr. 1, und Beih. z. bot. Zentralbl., 1. Abt., Bd. XVIII, 1905, S. 45.

[3]) J. Gerassimoff, l. c. 1901, S. 188.

[4]) Derselbe, l. c. 1896, S. 2, und Flora, Bd. XCIV, 1905, S. 79.

[5]) A. Nathansohn, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXV, 1900, S. 57.

das an den Rändern mit Vaselin bestrichen war und in einem Tropfen des 1-proz. Ätherwassers die zu beobachtenden Fäden trug. Schon eingeleitete Kernteilungen erreichten in solchem Ätherwasser in gewohnter Weise ihren Abschluß, neu sich einstellende zeigten das abweichende Verhalten.

Das älteste Objekt, an dem Zellteilung studiert wurde, ist Cladophora glomerata[1]). Wir haben uns schon (S. 397) mit dem Bau dieser Alge beschäftigt und wissen, daß sie vielkernig ist. Ihre Zellteilung erfolgt, ohne von Kernteilung begleitet zu sein. Jeder Tochterzelle fällt eine Anzahl Kerne zu, die sich weiter vermehren, daher auch Kernteilung und Zellteilung sich völlig unabhängig voneinander vollziehen können. — Es gelingt hier zu allen Tagesstunden, Zellteilungen zu finden, man sucht öfters aber auch vergebens nach ihnen. Hat man einen Teilungszustand gefunden, so ist auch auf andere zu hoffen, denn meist pflegen sich, wenn überhaupt, zahlreiche Zellen der Kultur gleichzeitg zu teilen. Man erkennt die Teilungszustände leicht, da sich die Stelle der in Bildung begriffenen Scheidewand als heller Ring innerhalb der Zelle markiert. — Der Vorgang beginnt mit einer schwachen, ringförmigen Ansammlung von Zytoplasma in halber Länge der Zelle[2]). Die Chlorophyllschicht weicht entsprechend zurück. Es zeigt sich jetzt die Anlage der Scheidewand als scharfe Linie. Sie dringt leistenförmig in das Zellumen vor und drückt die Chlorophyllschicht immer tiefer ein. Die wenig markierte, ringförmige Ansammlung von Zytoplasma bleibt auch hier an der inneren Kante der Scheidewandanlage. Zu beiden Seiten der vordringenden Scheidewand, zwischen der eingedrückten Chlorophyllschicht und der zarten Hautschicht, sammelt sich Zellsaft an; daher der farblose Ring in der sich teilenden Zelle. Der chlorophyllführende Zellinhalt wird schließlich durchschnitten, und die diaphragmaartige Membran in der Mitte zu einer geschlossenen Scheidewand ergänzt. Der durchschnittene Zellinhalt hält sich eine Zeitlang von der neugebildeten Scheidewand fern, um sich ihr dann allmählich zu nähern. Die gebildete Querwand ist zunächst äußerst dünn und wird erst von den beiden Schwesterzellen aus allmählich verdickt. Die Zellkerne sind klein, so daß es schwer hält, einen Einblick in die Einzelheiten ihres Teilungsvorgangs zu gewinnen. Die Teilungsstadien lassen sich durch 1-proz. Chromsäure oder Chrom-Osmium-Essigsäure sehr leicht fixieren, sind aber nur selten anzutreffen[3]).

Alle die mit innerer, fadenförmiger Differenzierung verbundenen Teilungsvorgänge der Zellkerne werden als indirekte, oder mitotische, oder karyokinetische zusammengefaßt und den direkten oder amitotischen, die auf einfacher Durchschnürung des Kerns beruhen, gegenübergestellt. — Direkte oder amitotische Kernteilung, oder auch kurz Amitose, findet man in manchen älteren Zellen höher organisierter Pflanzen, doch auch in den lebenskräftigen Internodialzellen der Characeen[4]). An einer solchen wollen wir derartige Kernteilungsvorgänge untersuchen.

Wir wählen dazu eine Nitella mit unberindeten Internodien. Die in direkter Teilung begriffenen Kerne der Internodialzellen der

[1]) Von H. v. Mohl, im Jahre 1835, Dissert., abgedruckt in Flora, 1837.

[2]) E. Strasburger, Zellb. u. Zellt., 3. Aufl., 1880, S. 203.

[3]) E. Strasburger, l. c. 1880; B. Němec, Bull. intern. Acad.. Bohême, 1910.

[4]) Fr. Johow, Bot. Ztg., XXXIX. Jahrg., 1881, Sp. 729; E. Strasburger, Über den Teilungsvorgang d. Zellk.. 1882, S. 98. auch Arch. f. mikr. Anat., Bd. XXI, dort die Literatur.

Characeen sind langgestreckt und in mannigfaltiger Weise, oft einseitig eingeschnürt. Die Teilungen werden träge ausgeführt, so daß neue Einschnürungen entstehen, bevor die älteren zur vollendeten Trennung der Teile geführt haben. Das gibt manchem Zellkern ein unregelmäßig perlschnurförmiges Aussehen. Durchschneidet man ein Internodium mit der Schere, zieht es zwischen den beiden Schenkeln einer Pinzette durch und bringt den herausgedrückten Inhalt in einen Wassertropfen, so wird man in diesem sicher zahlreiche Kerne finden. Sie erscheinen farblos, annähernd homogen, mit einigen Nukleolen. An der Oberfläche der Kerne bildet sich im Wasser eine Niederschlagsmembran aus Zytoplasma, die sich alsbald als Blase von der Kernoberfläche abhebt.

Drückt man den Zellinhalt in Methylgrün-Essigsäure aus, so färben sich die Kerne rasch blau, erscheinen körnig und zeigen ebenfalls eine, doch nur wenig abstehende, blasenförmige Hülle. Am besten sind die Bilder, die man in Pikrin-Nigrosin erhält. Die Kerne färben sich alsdann stahlblau, die meisten sind ohne Blase. — Für Fixierung der Kerne innerhalb der Zelle eignet sich besonders Pikrinsäure. Die entsprechend ausgewaschenen Präparate werden alsdann mit Hämatoxylin gefärbt. Man kann hierauf Inhaltsteile der durchschnittenen Internodialzellen herausdrücken oder mit Nadeln freilegen und in Glyzerin untersuchen. — Auch Chrom-Osmium-Essigsäure fixiert die Kerne, wie überhaupt den Zellinhalt der Characeen gut. An den aus so fixiertem Material hergestellten Mikrotomschnitten läßt sich durch eine bestimmte Salzsäurebehandlung feststellen, daß in den zur Amitose übergehenden Kernen das Linin dauernd zunimmt, ebenfalls die Nukleolarsubstanz, nicht aber das Chromatin. Den Nachweis führt man so, daß man die auf Objektträgern aufgeklebten Schnitte der Wirkung von rauchender Salzsäure, die chromatinlösend wirkt, aussetzt, und zwar bei Nitellapräparaten 10—12 Std., bei Chara etwas länger. Das Chromatin ist dann aus den Kernen entfernt. Das Gerüstwerk der amitotischen Kerne zeigt jedoch, ebenso wie deren Nukleolen, keine merkliche Veränderung[1]). In den meisten Zellen der Nitella und den unberindeten Zellen der Chara lassen sich bei aufmerksamer Betrachtung die Kerne als blasse, mit dem Protoplasmastrom wandernde Gebilde, auch im lebenden Zustand unterscheiden.

In allen Zellen der Characeen, die ihre Teilungsfähigkeit auch weiterhin behalten sollen, geht die Kernteilung auf indirektem Wege, also durch Mitose (Karyokinese) vor sich[2]). Will man diese Teilungen hier studieren, so wendet man sich am besten an die Vegetationspunkte. Die meisten Ansichten für Kernteilungen pflegt am Vormittag fixiertes Material zu bieten.

Die Stachelkugeln[3]), die aus den Zellen mancher Nitella-Arten, wie Nitella syncarpa, N. flexilis, N. opaca und N. capitata, mit den Zellkernen gleichzeitig vortreten und fixiert werden, sind eiweißartiger Natur. Sie reagieren in der bekannten Weise der Eiweißkörper. Mit Jodjodkalium-Lösung werden sie sattbraun, mit 10-proz. Rohrzucker und konz. Schwefelsäure intensiv rot, in Millonschem Reagens ziegelrot, in Molybdänsäure-haltiger Schwefelsäure färben sie sich schwach, doch deutlich

---

[1]) E. Strasburger, l. c. 1908, S. 35.

[2]) O. Kaiser, Bot. Ztg., LIV. Jahrg., I. Abt., 1896, S. 65; Br. Dębski, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXX, 1897, S. 227, und Bd. XXXII, 1898, S. 635.

[3]) Vgl. E. Overton, Bot. Zentralbl., Bd. XLIV, 1890, S. 4 ff.

blau, mit Blutlaugensalz-Essigsäure fixiert, gut ausgewaschen und mit Eisensesquichlorid behandelt, werden sie schön blau; mit 10-proz. Kaliumbichromat-Lösung nehmen die meisten Stachelkugeln braunrote Färbung an, mit Osmiumsäure der Mehrzahl nach einen hellbraunen Ton, in Eisensesquichlorid-Lösung eine schwache, nicht sehr charakteristische, neutraltintenartige Färbung. Daß diese Reaktionen, ferner die Lebendfärbung mit Methylenblau (s. S. 151), nicht allein auf Eiweißkörper, sondern auch auf einen Gehalt an Gerbstoff hinweisen sollen, wird bestritten[1]). Bei anderen Nitella-Arten, als den eben genannten, findet man statt der typischen Stachelkugeln weißliche, unregelmäßige, ausgebuchtete und mit Höckern

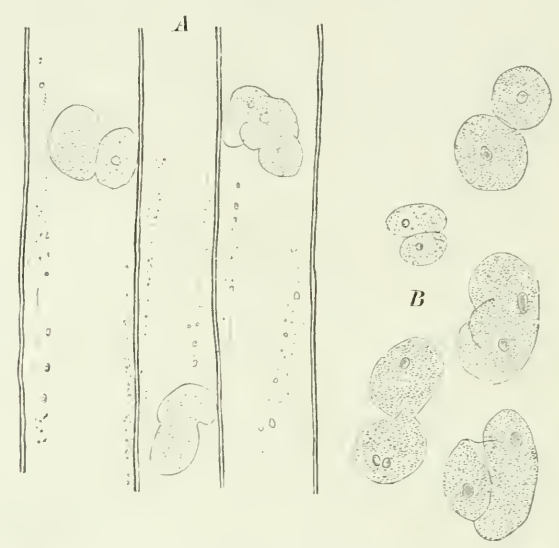


Fig. 258. Tradescantia virginica. Amöboide Zellkerne älterer Internodien. *A* nach dem Leben; *B* nach Methylgrün-Essigsäure-Behandlung. Vergr. 540.

versehene Klumpen, die oft aus stachellosen, kugeligen Einzelgebilden zusammengesetzt erscheinen und chemisch mit den Stachelkugeln übereinstimmen[2]). Außer diesen führt das Protoplasma der Nitella-Zellen auch noch wasserhelle Blasen, die ähnlich wie die Stachelkugeln reagieren und im wesentlichen die nämlichen Gebilde, die auch durch Übergänge verbunden sind, darstellen. In gewisser Beziehung lassen sich die Gebilde mit Aleuronkörnern vergleichen. Bei Chara-Arten, wie Chara fragilis oder Chara hispida, sind nur die nackten Kugeln vertreten.

Bei höheren Pflanzen finden sich amitotische Kernteilungen u. a. in Endospermzellen, so bei Ranunculus acer[3]) und in den Epidermiszellen, welche die Griffelkanäle von Lilium auskleiden[4]). Amitosen ähnliche Bilder, die jedoch nichts anderes als der Ausdruck einer amöboiden Bewegung des Kerns darstellen sollen, und die in Fig. 258 dargestellt sind, hatten zur An-

[1]) A. Votava. Österr. bot. Zeitschr., Bd. LXIV, 1914, S. 445.
[2]) A. Votava, l. c. 1914, S. 444.
[3]) P. Schürhoff, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. LV, 1915, S. 499.
[4]) Derselbe, Beih. z. Bot. Zentralbl., 1. Abt., Bd. XXXVII, 1920. S. 388.

nahme geführt, daß auch hier direkte Kernteilung vorläge[1]). Man kann sich über die hier vorliegenden Verhältnisse orientieren, wenn man Längsschnitte aus älteren Internodien von Tradescantia virginica in Wasser oder Methylgrün-Essigsäure untersucht. Da zeigt sich besonders im Markparenchym in jeder Zelle ein mehr oder weniger tief eingeschnürter und so gelappt erscheinender Kern. Manchmal scheint die Einschnürung so weit gegangen zu sein, daß aus solch einem Kern zwei entstanden sind (vgl. Fig. 258 *A* oben links, *B* oben). Tatsächlich handelt es sich aber auch hier um je einen amöboid geformten, zweilappigen Kern, dessen Verbindungsstück vom Beschauer abgekehrt liegt. Zwei- und mehrkernige Zellen finden sich in diesen Geweben nicht.

Wie wir schon an entsprechend behandelten Characeen-Präparaten erkannten (vgl. S. 687), wirkt Salzsäure chromatinlösend. Diese Eigenschaft können wir benutzen, um mit 4 T. konz. Salzsäure in 3 T. Wasser die Chromosomen aus einer fixierten Kernteilungsfigur rasch herauszulösen. Auf diese Weise läßt sich im Kernspindelstadium die Kernplatte entfernen, während die Spindelfasern zurückbleiben. Daß das Chromatin nicht stabil, sondern sehr veränderlich ist, und besonders eingreifende Veränderungen durch den Prozeß der indirekten Kernteilung erfährt, lehrten die Versuche von OES[2]) und NĚMEC[3]). Es fand sich z. B., daß bei Einwirkung heißen Wassers die Chromosomen auch in fixiertem Material allmählich vollständig gelöst werden und schon gänzlich verschwunden sein können, während sich das Chromatin der ruhenden Kerne nur wenig angegriffen zeigt. In ähnlicher Weise kann man auch die Unterschiede in der Löslichkeit der verschiedenen Bestandteile des Protoplasmas verwerten, um aus den fixierten Präparaten den einen oder den anderen Bestandteil zu entfernen und die übrigen dann isoliert zu beobachten. Besonders hat längere Behandlung der Schnitte mit Pepsin-Salzsäure bei Brütwärme gute Dienste geleistet[4]). Die Pepsinlösung stellt man sich am zweckmäßigsten aus 1 T. Pepsin-Glyzerin[5]) und 3 T. Wasser her, das mit 0,2-proz. chem. reiner Salzsäure angesäuert wird. Die Einwirkung hat bei Brütwärme zu erfolgen[6]). Die Pepsinlösung wirkt auf fixiertes Protoplasma langsamer als auf frisches ein; im Einzelfall hat über die Länge der Einwirkung der direkte Versuch zu entscheiden. Durch ihre Unlöslichkeit in Pepsin-Salzsäure zeichnen sich das Plastin, nach E. ZACHARIAS die Grundsubstanz des Zytoplasmas, ferner die im Zellkern vertretenen Nukleïne aus[7]). Andererseits werden die

[1]) E. STRASBURGER, zuletzt WIESNER-Festschrift, 1908, S. 40. Vgl. dazu auch J. KISSER, Sitzber. d. Akad. d. Wiss., Wien, math.-nat. Kl., 1. Abt., Bd. CXXXI, 1922, S. 114, der im Gegensatz zu SCHÜRHOFF angibt, daß durch die amöboiden Gestaltsveränderungen des Kernes mehrkernige Zellen gebildet werden können.

[2]) A. OES, Bot. Ztg., LXVI. Jahrg., 1908, 1. Abt., S. 89, und Zeitschr. f. Bot., Bd. II, 1910, S. 39.

[3]) B. NĚMEC, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXVII, 1909, S. 43; Bull. intern. acad. Bohême, 1910, u. Das Problem der Befruchtungsvorgänge, 1910, S. 296 ff.

[4]) Der Trypsinverdauung soll z. B. das Nukleïn ebenso wie der Pepsinverdauung widerstehen, falls es nicht durch die alkalische Reaktion des Trypsingemisches in Lösung versetzt wird. A. KOSSEL, in „Die Gewebe des menschlichen Körpers" von BEHRENS, KOSSEL, SCHIEFFERDECKER, Bd. I, 1889, S. 260.

[5]) Es empfiehlt sich, Pepsin u. Trypsin als Pepsin-Glyzerin, bzw. als Pankreatin-Glyzerin von Dr. *G. Grübler & Co.*, Leipzig, zu beziehen.

[6]) Pankreatin-Glyzerin wird zu dem nämlichen Zweck mit dem dreifachen Volumen Wasser versetzt.

[7]) Über die Mikrochemie der einzelnen Teile des Protoplasmas, welche z. T. noch sehr problematisch ist, vgl. u. a. J. REINKE, FRANK SCHWARZ, E. ZACHARIAS, A. KOSSEL,

Nukleïne-enthaltenden Teile des Kerns durch das Nuklease-Reagens von M. A. van Herwerden[1]) gelöst.

Zum Nachweis einer Verschiedenheit der einzelnen Bestandteile des Protoplasmas hat man auch rotblaue Farbengemische, wie Fuchsin-Methylgrün, Fuchsin-Methylenblau, angewandt. Der Zellkern neigt in solchen Farbengemischen meist zur Blaufärbung, er ist zyanophil; das Zytoplasma färbt sich rot, es ist erythrophil. Dieses Verhalten soll nach Lilienfeld dadurch veranlaßt sein, daß die Kerne Nukleïnsäure enthalten, der Zellleib reine Eiweißstoffe führt[2]). Die Nukleïnsubstanzen des Kerns wählen immer den basischen, die Eiweißstoffe des Zelleibs immer den sauren Farbstoff aus. Benutzt man somit zu den Färbungen einen basischen, roten und einen sauren, blauen oder grünen Farbstoff, so kehrt sich das Verhältnis in der Chromatophiile um; so bei Anwendung eines Farbengemischs aus Safranin und Lichtgrün. Die Neigung des Kerns, bestimmte Farbstoffe (sog. Kernfarbstoffe) besonders stark festzuhalten, ist auf seinen Gehalt an Metaphosphorsäure zurückgeführt worden. Entsprechende Färbungsversuche lehrten, daß auch das im Plasma niederer Pflanzen besonders verbreitete Volutin (vgl. Reg. IV), nach A. Meyer eine Nukleïnsäureverbindung, eine starke Affinität zu den „Kernfarbstoffen" besitzt, was auf seinen hohen Phosphorgehalt schließen läßt[3]). — Lebendes und totes Plasma läßt sich ebenfalls durch sein Verhalten bestimmten Farbstoffen gegenüber unterscheiden. So führt nach Mosso[4]) lebendes Plasma Methylgrün, zu 2 % in einer 0,8—1-proz. Kochsalzlösung gelöst, in Methylviolett über, zeigt also rotviolette Färbung, während totes den grünen Farbstoff unverändert aufnimmt. Aus einem Gemisch von je 0,05 % Neutralrot und Methylenblau (Ruzika-Gemisch) nimmt lebendes Plasma den roten, abgestorbenes den blauen Farbstoff auf[5]).

Zum Schluß wollen wir unsere stärksten Objektive zu Hilfe nehmen, um Einblick in ein Verhältnis zu gewinnen, dessen Nachweis von der größten Wichtigkeit für die gesamte Auffassung des Pflanzenkörpers geworden ist. Es handelt sich um die Verbindung der Protoplasten durch Plasmafäden, wodurch der vielzellige Organismus auch im Pflanzenreich zu einer zusammenhängenden, lebenden Einheit erhoben wird[6]).

Das geeignetste Objekt für diese Untersuchung gibt die Mistel (Viscum album) ab. Man wählt nicht zu alte Internodien, solche indes, die völlig ausgewachsen sind, und stellt Flächenschnitte von ihnen her. Man beginnt mit der Epidermis und entnimmt der

---

A. Meyer. Die näheren Literaturangaben bei A. Meyer, Analyse der Zelle, 1920. S. a. die entspr. Teile in der 2. Aufl. von F. Czapek, Biochemie der Pflanzen, 1913 bis 1921. Dazu noch A. Pratje, Biol. Zentralbl., Bd. XL, 1920, S. 98 ff. und O. Baumgärtel. Arch. f. Protistenk., Bd. XLI, 1920, S. 69 ff.; vgl. a. V. Grafe, Chemie der Pflanzenzelle, Berlin, 1922.

[1]) Vgl. M. A. van Herwerden u. a. im Archiv f. Zellforschg., Bd. X, 1913, S. 431 ff. S. a. Reg. IV Nukleasereaktion; ferner bezügl. des Kernkörperchens P. G. Unna u. H. Fein, Biol. Zentralbl., Bd. XLI, 1921, S. 495 ff. S. a. dies. Prakt. S. 684.

[2]) Vgl. L. Lilienfeld, Verh. d. phys. Gesellsch. Berlin, Jahrg. 1892—93, Nr. 11.

[3]) Nach Giemsa in E. Reichenow, Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt, Berlin, Bd. XXXIII, 1909, S. 21 ff.

[4]) A. Mosso, Archiv f. pathol. Anat. u. Physiol., herausg. von R. Virchow, Bd. CXIII, 1888, S. 397.

[5]) Vgl. O. Loew, Flora, Bd. CIX, 1916, S. 61.

[6]) A. Meyer, Morphol. u. physiol. Analyse der Zelle, Jena, 1920, S. 519 ff. Dort ausführliche Literaturangabe. S. a. H. Lundegårdh, Die Zelle, im Handbuch f. Pflanzenanatomie, herausg. v. K. Linsbauer, Bd. I, 1921, S. 125 ff.

nämlichen Stelle auch die nächstfolgenden Schnitte, die vornehmlich aus primärer Rinde bestehen. Jeden Schnitt legt man in dem Augenblick, wo er ausgeführt wurde, in 1-proz. Osmiumsäure. In dieser hat er 5—7 Min. zu verweilen, worauf er in Wasser abgespült und in Jodjodkaliumlösung (0,2 % Jod und 1,64 % Jodkalium) übergeführt wird. Dort bleibt er 20—30 Min., um des weiteren mindestens $^1/_2$ Std. lang in 25-proz., auch wohl etwas stärkerer Schwefelsäure zu verweilen und endlich für etwa 5 Min. in 25-proz. Schwefelsäure, die mit Jod und einem Tropfen Pyoktaninlösung (1 g Pyoktanin, s. Reg. IV, auf 30 ccm

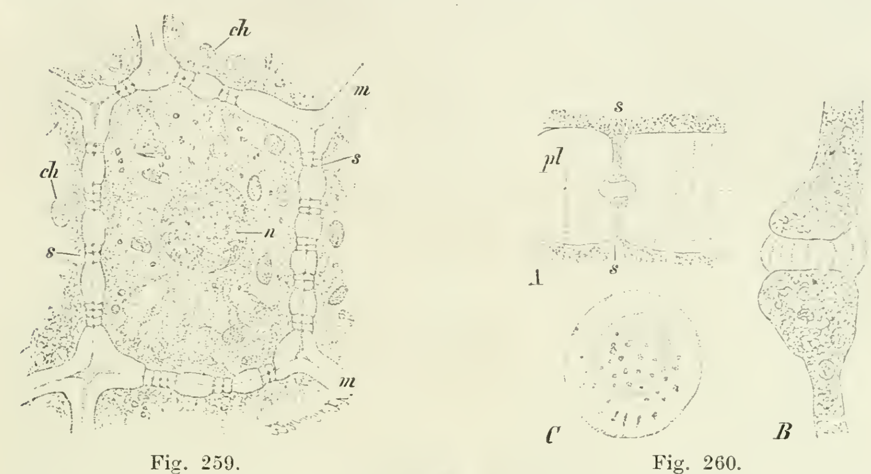


Fig. 259. Fig. 260.

Fig. 259. Eine Zelle aus der Rinde der Mistel (Viscum album) nach entsprechender Härtung und Färbung der Protoplasten und Quellung der Wände (*m*). Die Schließhäute (*s*) der Tüpfel von Plasmodesmen durchsetzt, *ch* Chloroplasten, *n* Zellkern. Vergr. 1000.

Fig. 260. *A* Ein etwas gequollenes Wandstück aus dem Endosperm der Elfenbeinpalme (Phytelephas macrocarpa). Bei *s* und *s* die aufeinandertreffenden, mit Zytoplasma erfüllten Tüpfelkanäle der beiden angrenzenden Zellen, in der Schließhaut zarte Plasmodesmen, außerdem die ganze Dicke der Zellwand durchsetzende Plasmodesmen *pl*. Vergr. 375. *B* Der Inhalt der beiden angrenzenden Tüpfelkanäle und die Plasmodesmen der Schließhaut ohne vorausgehende Quellung. 1500 mal vergr. *C* Die Mündungsstelle eines Tüpfelkanals und die Plasmodesmen der Schließhaut von der Fläche gesehen bei 1500 facher Vergrößerung.

Wasser) versetzt wurde, zu gelangen. Ist die Quellung der Wände in der Schwefelsäure hinlänglich stark und die Färbung der Plasmaverbindungen hierauf entsprechend ausgefallen, so lassen die gewonnenen Präparate nunmehr die gewünschte Beobachtung zu. Sowohl die Flächenansichten der Epidermis, vornehmlich, wenn diese von innen betrachtet werden, wie auch besonders die innerhalb der primären Rinde ausgeführten Schnitte, zeigen in den gequollenen Schließhäuten der Tüpfel äußerst zarte, intensiv blau gefärbte Plasmafäden, durch welche die Protoplasten der angrenzenden Zellen verbunden sind. Diese Plasmafäden werden als Plasmodesmen bezeichnet. Die Fig. 259 führt ihre Verteilung in den Wänden einer Rindenzelle von Viscum album vor. — Sollte Viscum nicht zur Verfügung stehen, so ließen sich mit ähnlichem Ergebnis die Rindenzellen von Tannen-Zweigen (Abies-Arten) für die Untersuchung verwenden.

Wegen der großen Leichtigkeit, mit der es die Beobachtung der Plasmodesmen zuläßt, sollte auch das Endosperm der Elfenbeinpalme (Phytelephas macrocarpa) in den Kreis der Untersuchung gezogen werden. Die als „Steinnüsse" bekannten Samen dieser Palme kommen als vegetabilisches Elfenbein allgemein zur Verwendung und sind somit leicht zu beschaffen. Da das Gewebe dieses Endosperms sehr hart ist, so gilt es beim Schneiden mit dem Rasiermesser große Vorsicht zu üben und sich mit kleinen Schnitten zu begnügen. Werden diese unter dem Mikroskop untersucht, so bieten sie das uns schon bekannte Bild dar, dasselbe Bild, das uns seinerzeit bei der Untersuchung des Endosperms der Dattel (S. 194) entgegentrat. Legen wir die Schnitte in eine verd. wässr. Lösung von Safranin oder Pyoktanin und lassen diese längere Zeit einwirken, untersuchen dann in Glyzerin, so können wir leicht die gefärbten Plasmodesmen innerhalb der Schließhäute der Tüpfel unterscheiden (Fig. 260 *B*). Die Plasmodesmen verlaufen bogenförmig in der Schließhaut, mit um so stärkerer Krümmung, je mehr sie sich von der Mitte entfernen. Außer diesen Plasmodesmen der Schließhäute kann man im Endosperm von Phytelephas noch solche nachweisen, welche die ganze Dicke der Wände durchsetzen (*A*, *pl*). Ihr Nachweis ist wesentlich schwieriger und gelingt mit Farbstoffen erst, nachdem eine schwache Quellung der Wand in mit Jod versetzter, verdünnter Schwefelsäure der Färbung vorausging. Man wird hierbei feststellen können[1]), daß den peripherischen Zellschichten im Endosperm von Phytelephas fast ausschließlich jene Plasmaverbindungen zukommen, welche durch die ganze Dicke der Wand gehen, den inneren hingegen außerdem noch solche, welche die Schließhäute von Tüpfeln durchsetzen, mit denen diese inneren Zellen ausgestattet sind. Wo der Schnitt eine Wand so gestreift hat, daß sie sich in Flächenansicht zeigt, erscheinen bei guter Färbung die Plasmodesmen der Tüpfel als kreisförmige Ansammlungen gefärbter Punkte oder Striche (*C*).

Außer dem schon empfohlenen Verfahren zum Nachweis der Plasmodesmen haben sich die von Gardiner[2]) ausgebildeten vorzüglich bewährt. Die zu untersuchenden Objekte werden in kleinen Stückchen, je nach der Gewebeart, entweder in konz. wässr. Pikrinsäure, oder in Pikrin-Schwefelsäure, oder in Pikrin-Essigsäure, oder selbst in Schwefelsäure entsprechender Konzentration geworfen, um getötet zu werden und entsprechend zu quellen. Bei sehr resistenten Geweben läßt man auf die Behandlung mit Pikrinsäure eine solche mit Pikrin-Schwefelsäure folgen. Bei Farnen hat sich besonders Pikrin-Essigsäure bewährt. Die Fixierung aller dieser Objekte wird hierauf mit dem Kolossowschen Gemisch vorgenommen, das aus gleichen Teilen einer $^1/_2$-proz. Lösung von Osmiumsäure und einer 2- oder 3-proz. Lösung von Uraniumnitrat besteht. Unter Umständen wird diese Lösung mit dem gleichen oder doppelten Volumen Wasser verdünnt. Auch das Hermannsche Gemisch, 15 T. 1-proz. Platinchloridlösung, 1 T. Eisessig und 4 T. 2-proz. Osmiumsäure, läßt sich mit gutem Erfolg an Stelle der Kolossowschen Lösung brauchen, während alle chromsäurehaltigen Gemische zu verwerfen sind. Nach der Fixierung kann

[1]) Vgl. a. F. Kohl, Ber. d. Deutsch. bot. Ges., Bd. XVIII, 1900, S. 365.

[2]) W. Gardiner, Proceed. Cambridge Philos. Society, Vol. IX, 1898, S. 504; weiteres Ebenda, S. 508, und Reg. IV Plasmodesmen.

das Material in Thymolwasser (0,5 g Thymol auf 1 l Wasser) aufbewahrt und von dort nach Bedarf zum Schneiden entnommen werden. Die Färbung führt man mit einer gesätt. wässr. Lösung von Safranin oder einer gleichen 2% Alkohol und 1% Anilin enthaltenden Lösung aus. Dann werden die Schnitte in Wasser abgewaschen und einige Zeit mit einer 2-proz. wässr. Lösung von Orange G behandelt, wobei die Wände entfärbt werden, während die plasmatischen Teile ihre Farbe behalten. Statt Safranin kann man auch andere Farbstoffe, wie Gentianaviolett, Eosin oder Zyanin benutzen. Das Gentianaviolett wendet man zweckmäßig nach der Gramschen Methode an, indem man nämlich die gefärbten Schnitte mit einer Lösung von 1 g Jod und 2 g Jodkali in 300 ccm Wasser behandelt, bis sie vollkommen schwarz geworden sind. Die Zellwände werden hierauf durch Behandlung der Schnitte mit einer 5-proz. wässr. Säurefuchsinlösung entfärbt. Man überträgt die Schnitte dann durch verd. Glyzerin in Glyzerin-Gelatine. — Ein anderes von Gardiner empfohlenes Verfahren ist folgendes. Man tötet und fixiert kleine Gewebestückchen durch Einlegen in Jodwasser oder besser noch in eine Jodjodkali-Lösung (0,1 oder 0,2% Jod in 0,15 oder 0,25% Jodkali in Wasser für kleinere und 0,5% Jod in 0,75% Jodkali in Wasser für größere Gewebestückchen). Das Material kann bis zum Gebrauch in der Jodjodkali-Lösung bleiben, oder in Thymolwasser überführt werden. Vor dem Schneiden werden die fixierten Stücke in Wasser abgespült, die Schnitte sodann zum Quellen in Schwefelsäure gebracht, und zwar je nach der Beschaffenheit des Objekts in 1-proz., 5-proz., bei sehr resistentem Gewebe selbst in 30-proz. Dann werden die Schnitte kurze Zeit in Jod-Schwefelsäure (0,5% Jod in 0,75% Jodkali auf 5-proz. Schwefelsäure, oder 1% Jod in 1,25% Jodkali auf ebenfalls 5-proz. Schwefelsäure) gebeizt. Unterdessen stellt man sich die jedesmal frisch zu bereitende Färbeflüssigkeit her. Sie besteht aus einer 10-proz. Schwefelsäure und einer 0,5-proz. oder 1-proz. wässr. Pyoktanin- oder Gentianaviolettlösung. Diese werden zu gleichen T., etwa je 5 ccm, gemischt. Die Schnitte werden nun aus der genannten Jod-Schwefelsäure in eine andere von 0,1% Jod und 0,15% Jodkali in 5-proz. Schwefelsäure gebracht und aus dieser schnell in die in ein Uhrglas gegossene Färbeflüssigkeit übertragen. Nach etwa 10 Min. wäscht man sie in Wasser aus und kann sie untersuchen. Man wird dann finden, daß das Protoplasma samt den Plasmodesmen blau gefärbt ist, während die Zellwände fast ungefärbt blieben. Um die Färbung zu verstärken, wiederhole man das Beizen und Färben der Schnitte ein- oder mehreremal, oder behandle die gefärbten Schnitte mit Jod-Schwefelsäure, und zwar 0,1% Jod und 0,15% Jodkali in 5-proz. Schwefelsäure, bzw. 5-proz., mit Jod gesättigter Schwefelsäure. Soll die Verstärkung der Tinktion durch nochmalige Färbung der Schnitte erreicht werden, so beizt man wieder mit Jod-Schwefelsäure, jedoch mit einer verdünnteren Lösung als die zuerst angewendete. Dann gelangen die Schnitte, nach kurzem Aufenthalt in 5-proz. Schwefelsäure, in Pyoktanin- bzw. Gentianaviolett-Schwefelsäure. Wenn die Schnitte dann noch eine Nachbehandlung mit verd. Jod-Schwefelsäure erfahren, so erscheinen Protoplasma und Plasmodesmen tiefschwarz. Damit die Schnitte die Farbe behalten, bettet man sie am besten in Glyzerin ein, das ein wenig Zinkchlorid, evtl. auch Jod enthält. Hierzu mischt man 30 ccm Glyzerin, 60 ccm Wasser, 10 ccm einer 20-proz. Zinkchloridlösung und fügt noch 1 oder 2 Jodsplitterchen hinzu. Das Ganze erwärmt man leicht über einem Wasserbad. Aus diesem Ge-

misch kann man schließlich die Schnitte in Glyzerin-Gelatine übertragen. — Auch ohne Quellung der Membranen lassen sich die Plasmodesmen nachweisen, wenn man kleine Stücke des Untersuchungsobjekts in eine heiße, starke Silbernitratlösung bringt und dort etwa 20 Min. kocht. Bei Objekten mit dicken Plasmodesmen genügt dies Verfahren, die Plasmodesmen heben sich dann als schwarze gekörnelte Linien von den hell gebliebenen Membranteilen ab. Zartere Plasmodesmen erscheinen jedoch erst deutlich, wenn Mikrotomschnitte der betr. Objekte, die auf dem Objektträger in üblicher Weise aufgeklebt waren, vor Lösung des Paraffins 8—10 Tage lang in diffusem Tageslicht liegen geblieben waren, wonach die Untersuchung in verdünntem Glyzerin, nicht in Kanadabalsam, erfolgt[1]).

Mit Hilfe der für diesen Spezialfall modifizierten Gardinerschen Untersuchungsmethoden und bestimmten Färbungen gelang es auch, die Entwicklungsgeschichte der Siebtüpfel klarzustellen (s. S. 271 u. Reg. IV Siebtüpfel).

In eintrocknenden oder absterbenden Geweben verbleiben die Plasmodesmen in den Zellwänden und sterben dort ab[2]). Bei künstlich veranlaßter Plasmolyse werden hingegen die Plasmodesmen mehr oder weniger vollständig aus den Zellwänden gezogen, wodurch dauernde Störungen für das gegenseitige Verhältnis der Protoplasten erwachsen. Bei bestimmter Konzentration der zur Veranlassung von Plasmolyse benutzten Lösungen spinnt der sich zusammenziehende Protoplast zahlreiche Fäden aus, durch die er mit der Zellwand zunächst verbunden bleibt[3]). Nur ein Teil dieser Fäden steht in Beziehung zu den Plasmodesmen und mündet an den von diesen durchsetzten Tüpfel-Schließhäuten, die meisten endigen blind an der Zellhaut.

Bei lokalen Verletzungen der Gewebe kann eine plötzliche Beförderung von Plasmamassen nach der verletzten Stelle erfolgen. Dabei werden die von den Plasmodesmen durchsetzten, feinen Poren der Zellhaut als Wege benutzt, wobei selbst Kerne, zu Fäden gestreckt, diese engen Bahnen passieren[4]). Es handelt sich dabei vielfach um mechanische Wirkungen, die meist das Absterben der betreffenden Teile zur Folge haben.

Über die Wirkung von Verletzungen auf den Zellinhalt der der Wunde benachbarten Zellen, kann man sich sehr gut an der Epidermis von Zwiebelschalen von Allium Cepa orientieren. Man wählt dabei die als abgelöstes Häutchen in der Zwiebel liegende Epidermis der morphologischen Oberseite der Zwiebelschalen, die, weil sie durch die darunterliegenden, meist stark zerquetschten Parenchymzellagen fast vollkommen von dem Schaleninnern isoliert ist, ohne Störung herausgenommen und zu Versuchen benutzt werden kann. Unter dem Mikroskop zeigt sich da in Flächenansicht ein gleichmäßig ausgebreitetes Netz gestreckter Zellen, in deren Mitte, im wandständigen Plasma eingebettet, der linsenförmige, am Rand etwas eingebuchtete Kern liegt. Macht man nun einen Einschnitt in die lebende

---

[1]) A. Tröndle, Verh. Schweiz. Naturf. Ges., Bd. XCVI, 2. Teil, 1913, S. 214.

[2]) E. Strasburger, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXVI, 1901, S. 553 u. 561 ff.

[3]) R. Chodat et A. M. Boubier, Journ. de Bot., T. XII, 1898, S. 118; E. Strasburger, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXXVI, 1901, S. 564. W. Ruhland, Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVI, 1908, S. 23.

[4]) H. Miehe, Flora, Bd. LXXXVIII, 1901, S. 105; M. Koernicke, Sitzber. d. Niederrh. Ges. f. Nat. u. Heilk., 1901; E. Strasburger, l. c. 1901, S. 551. Vgl. dazu auch J. Br. Farmer und L. Digby, Ann. of Bot., Bd. XXI, 1907, S. 161 ff., ferner C. West u. A. E. Lechmere, Ann. of Bot., Bd. XXIX, 1915, S. 285.

Epidermis, so rücken die Kerne allmählich von der Zellmitte an die Seitenwände und schließlich an diesen entlang nach der Wunde hin. 18 bis 19 Std. nach Herstellung des Einschnitts zeigen sie die „maximale Reaktion“, indem sie, umgeben von einer starken Plasmaansammlung, der der Wundfläche benachbarten Wand angelagert erscheinen. Von dort kehren sie an ihre normale Stelle zurück, und zwar sind sie in 3—4 Tagen dort wieder angelangt. Die Bewegung des Kerns geschieht dabei nicht aktiv[1]), sie wird vielmehr durch das Plasma bewirkt, das sich 13—15 Std. nach erfolgtem Einschnitt in die Epidermis in starker Bewegung begriffen zeigt, die, mehr und mehr an Intensität abnehmend, etwa $4^1/_2$ Tage andauert. Dabei ist deutlich zu verfolgen, wie der Kern von dem sich bewegenden Plasma an einer Seitenwand entlang geschoben wird, während seiner „maximalen Reizstellung“ in kurzen Zeiträumen abwechselnd Profil- und Flächenstellung zeigt, wobei die Plasmastränge ihn drehen und weiterwälzen[2]).

---

[1]) Bezügl. aktiver Kernbewegung vgl. u. a. S. NAWASCHIN, Österr. bot. Zeitschr., 1909, Nr. 12 u. W. BOBILIOFF-PREISSER, Vierteljahrsschr. Naturf. Ges., Zürich, 1916, S. 644.

[2]) G. RITTER, Zeitschr. f. Bot., III. Jahrg., 1911, S. 1. Vgl. dazu auch E. WINDEL, Beitr. z. allg. Bot., herausg. v. G. HABERLANDT, Bd. I, 1. H., 1916, S. 65 ff.

Register I.

Verzeichnis des erforderlichen Pflanzenmaterials.

Soweit die Pflanzen nicht frisch untersucht werden, ist es in diesem Verzeichnis hervorgehoben; auch ist der erforderliche Teil der Pflanze und dessen Entwicklungszustand angegeben. Die mit Sternen bezeichneten Pflanzen sind in dem kleiner gedruckten Text behandelt.

Register II.

Das Untersuchungsmaterial nach der Zeit des Einsammelns geordnet.

Alle vier Teile dieses Registers, sowohl der auf das Heranziehen der nötigen Entwicklungszustände sich beziehende, als auch der auf das ganze Jahr sich erstreckende, nicht minder der nach Jahreszeiten, und der nach Monaten geordnete, sind zu vergleichen. Soweit die Pflanzen nicht frisch untersucht werden sollen, ist dies hervorgehoben; auch ist der benutzte Teil der Pflanze und dessen Entwicklungszustand näher bezeichnet. Die mit Sternen versehenen Pflanzen sind in dem klein gedruckten Text behandelt.

Jederzeit in einigen Tagen heranzuziehen.

Jederzeit in einigen Wochen heranzuziehen.

Im Frühjahr heranzuziehen.

Das ganze Jahr hindurch zu erlangen.

Frühjahr.

Frühjahr und Anfang Sommer.

Frühjahr und Sommer.

Frühjahr bis Herbst.

Frühjahr bis Spätherbst.

Sommer.

Sommer und Herbst.

Spätsommer und Herbst.

Spätherbst.

Herbst bis Frühjahr.

Winter und Frühjahr.

Zweite Winterhälfte bis Frühjahr.

März.

Mai.

Mai. Juni.

Mai bis September.

Mai bis Oktober.

Mai bis Spätherbst.

Register III.

Verzeichnis der notwendigsten Reagentien, Farbstoffe und Einschlussmedien.

Äther.
Agar-Agar.
Alaun.
Alkannatinktur.
Alkannawurzel, trocken.
Alkohol abs.
— 96-proz.
Ammoniak.
Anilin, schwefelsaures.
Anilinblau.
Anilinöl.
Anilinwasser.

Benzin.
Bergamottöl.
Boraxkarmin.

Chloralhydrat.
Chloroform.
Chlorsaures Kali.
Chlorzinkjodlösung.
Chrom-Osmium-Essigsäure.
Chromsäure.

Diphenylamin.

Einschlußflüssigkeiten.
—, HOYERsche, für Anilinpräparate.
— für Karmin- und Hämatoxylinpräparate.
Eisenchlorid.
Eisenoxyd-Ammoniak, schwefelsaures.
Eisessig.
Eiweiß-Glyzerin.
Eosin.
Essigsäure.

FEHLINGsche Lösung.
Ferrum sulfuricum oxydatum.
Fuchsin.

Gelatine.
Gentianaviolett.
Glyzerin.
Glyzerin-Gelatine.
Gold-Size.
Gummi arabicum.

Hämalaun.
Hämatoxylin.

JAVELLEsche Lauge.
Jod in Alkohol.
— in Chloralhydrat.
— in Glyzerin.
— in Jodkaliumlösung.
— metallisches.

Kali, chlorsaures.
— doppeltchromsaures.
— essigsaures.
— salpetersaures.
Kalilauge.
Kalk, salpetersaurer.
Kampfer.
Kanadabalsam.
— in Xylol.
Karbolsäure.
Karmalaun.
Karmin.
— GRENACHERsches alkoholisches Borax-Karmin.
Knochenöl, säurefreies.
Kollodium.
Kongorot.
Korallin.
Kristall-Palast-Lack.
Kupfer, essigsaures.
— schwefelsaures.
Kupferoxyd-Ammoniak.

Lithium carbonicum.

Maskenlack.
Methylenblau.
Methylgrün.
— -Essigsäure.
— -Fuchsin.
Methylviolett.
Milchsäure.
MILLONsches Reagens.
Molybdänsaures Ammon in Chlorammon.

Natriumsulfat.
Natron, essigsaures.
Natronlauge.
Nelkenöl.

Nigrosin.
Nitron.

Olivenöl.
Orange G.
Origanumöl.
Osmiumsäure.

Paraffin von 45° und höherem Schmelzpunkt.
Paraffinöl.
Phenylhydrazin, salzsaures.
Phlorogluzin.
Pikrin-Anilinblau.
— -Nigrosin.
Pikrinsäure.
Pikrokarmin.
Pyoktanin.

Rosanilinviolett.
Rutheniumrot.

Safranin.
Säurefuchsin.
Salpetersäure.
Salzsäure.
Schwefelsäure.
Seignettesalz.
Silbernitrat.
Styresin.
Sublimat.
Sudan.
Syndetikon.

Tannin.
Terpentinöl.
Tusche, chinesische.

Vanillin.
Vaseline, weiße.

Wachs.
Wasser, destilliertes.
Wasserstoffsuperoxyd.

Xylol.

Zedernholzöl.
Zelloidin.
Zitronenöl.
Zucker.

Register IV.

Reagentien, Farbstoffe, Einschlussmedien, Verschlussmittel. Fixierungs- und Färbungsmethoden. Herstellung verschiedenartiger Präparate. Kulturmethoden. Chemische und physikalische Angaben. Pflanzenstoffe. Instrumente und deren Anwendung.

Die rein chemischen bzw. mikrochemischen Angaben wurden stark reduziert. Es sind in den letzten Jahren eine ganze Reihe leicht zugänglicher Spezialwerke erschienen, in welchen man sich ohne Mühe darüber orientieren kann. Genannt seien hier vor allem: Fr. Czapek, Biochemie der Pflanzen, 2. Aufl., Jena 1913ff., bzw. 3. Aufl. (unveränderter Abdruck der 2. Aufl.); H. Molisch, Mikrochemie der Pflanzen, 2. Aufl., Jena 1921, 3. Aufl. in Vorbereitung; H. Euler, Grundlagen und Ergebnisse der Pflanzenchemie, Braunschweig 1908/09; C. Wehmer, Die Pflanzenstoffe (Phanerogamen), Jena 1911; Biochemisches Handlexikon, herausgeg. von E. Abderhalden, Berlin 1911—1915; Fr. Emich, Lehrbuch der Mikrochemie, Wiesbaden 1911; V. Grafe, Chemie der Pflanzenzelle, Berlin 1922. Im Anschluß hieran sei noch hingewiesen auf: J. v. Wiesner, Die Rohstoffe des Pflanzenreiches, 3. Aufl., Leipzig 1914/21; J. König, Die Untersuchung landwirtsch. u. gewerbl. wichtiger Stoffe, 4. Aufl., Berlin 1911; und die Enzyklopädie d. mikroskop. Technik, herausgeg. von E. Ehrlich, R. Krause, M. Mosse, H. Rosin, K. Weigert, 2. Aufl., Berlin 1910.

A.

B.

C.

Siehe gegebenenfalls auch unter **K** und **Z.**

E.

F.

I.

K.

M.

N.

O.

Q.

S.

T.

Blackman, Ann. of Bot., Bd. XVIII, 1904, S. 323, u. New Phytolog., 1905, S. 973. — Man kann i. übr. auch z. gleich. Zweck Schnitte durch infizierte Blätter i. 1-proz. Osmiumsäure fixieren u. i. Chloralhydrat untersuchen. Dabei treten d. Hyphen durch tiefdunkle Schwärzung i. d. heller geblieb. Blatt-Gewebe hervor. W. Voss, Ber. Deutsch. bot. Ges., Bd. XXI, 1903, S. 366. — Die Hyphen v. Uromyces Pisi i. Euphorbia Cyparissias treten an Mikrotomschnitten nach Eisen-Hämatoxylin-Färbg. durch tiefere Tinktion hervor. Nachfärbg. m. Säurefuchsin, d. ebenfalls v. d. Pilzhyphen intensiver als v. d. Wirtszellen aufgenommen u. festgehalten wird, leistet gute Dienste. Nach schriftl. Angabe v. G. Tischler, d. dieses Färbeverfahren bei sein. Unters., Flora, N. F., Bd. IV, 1912, S. 1, ausprobierte. Vgl. a. H. v. Guttenberg, Beitr. z. Physiol. Anat. d. Pilzgallen, 1905, S. 42 usw. S. a. dies. Prakt. 393.

Uredineen - Sporen, Keimg., Fixierg. u. Färbg. Auf einem m. Eiweiß bestrichenen Objträg. läßt man i. einem Tropfen Wasser d. Sporen keimen, dunstet dann d. Wasser ab, fixiert 30 Min. i. d. schwäch. Flemmingschen Lös., wäscht d. Präp. m. Wasser aus u. härtet sie folgendermaßen: 3 Min. i. 30-proz. Alk., je 5 Min. in 50-, 70-, 80- u. 95-proz. Alk., dann 1 Min. i. Alk. abs. Zur Färbg. eignet sich d. Flemmingsche Dreifarbengemisch (siehe S. 83), ferner Hämatoxylin (S. 86). A. H. Christman, Transact. Wisconsin Acad. of Sc. 1905, S. 98.

— — -Keimlinge, lassen sich gut mit Mayers Alaun-Hämatoxylin (s. dieses, früheres Rezept) färben. Die Präp. werden f. 30 Min. i. dieses Gemisch gebracht u. m. verd. Orange G.-Lös. kurz nachgefärbt. A. H. Christman, Transact. Wisconsin Acad. of Sc., 1905, S. 98.

Ustilagineen. Fixierg. u. Färbg. Als Fixierungsmittel bewährte sich Chrom-Osmium-Essigsäure u. Pikrin-Essigsäure, als Färbungsmittel Safranin-Gentianaviolett-Orange, ferner Delafieldsches Hämatoxylin u. leichte Nachfärbg. m. Erythrosin od. Säurefuchsin. — Zum Studium keimender Sporen u. Konidien legt man Kulturen i. Bierwürze auf Objträg. od. i. Uhrgläsern an u. stellt sich n. d. Vorgang Harpers auf folg. Weise d. z. näh. Untersuch. geeigneten Präp. her. Man überträgt einen Tropfen d. Materials m. einer Kapillare f. 15—60 Min. i. einen Tropfen d. Fixierungsflüssigkeit. Ohne vorher. Auswaschen wird nun hiervon eine Reihe v. kleinen Tropfen m. d. Kapillare auf einen m. Eiweiß eingerieb. Objektträg. gebracht, dann d. Präp. erwärmt, ohne es jedoch trocken werden z. lassen, schnell durch d. versch. Alk. geführt, wobei d. Eiweiß koaguliert. Es kann nun i. d. f. Mikrotomschnitte gebräuchl. Weise weiterbehandelt werden. Vgl. u. a. Ch. J. Chamberlain, Meth. in Plant Histol., 3. Aufl., 1915, S. 202, 203, auch B. F. Lutman, Transact. Wisconsin Acad. of Sc., Bd. XVI, II. Teil, 1910, S. 1202.

Ustilagineen-Konidien, Fixierg. u. Färbg. 1 Tropfen d. konidienhalt. Flüssigk. wird auf einem rein. Deckglas m. d. Dämpfen v. erhitzten Jodkristallen fixiert, d. Präp. dann i. einem Thermostaten b. 50° gebracht, wobei sich d. Jod verflüchtigt u. d. Konidien antrocknen, darauf 12—15 Min. i. Delafields Hämatoxylin gefärbt, m. Wasser, 30-, 70- u. 96-proz. Alk. gewaschen u. durch Alk. abs. i. ein Gemisch v. Alk. abs. u. Glyzerin übertragen, worauf sie nach Verdunsten d. Alk. i. Glyzerin-Gelatine gelangen. Nach H. Federley, Oefversigt af Finska Vetensk.-Societ. Förhandl., Bd. XLVI, 1903/1904, No. 2.

— — Wenn es sich um Untersuchg. der Kernstruktur u. Teilungsfiguren handelt, so wendet m. am best. ein Verfahren an, das sich auch f. andere sehr kleine Organismen eignet. Man bringt d. Flüssigk. i. d. sich d. Untersuchungsmat. befindet, in 6—10 mm weite Glasröhrchen, deren unteres Ende pipettenförmig ausgezogen u. m. etw. Watte verschlossen ist. Die Röhrchen führt man nun nacheinander durch d. betr. Flüssigk., d. durch das nicht zu eng ausgezogene untere Ende aufsteigen. Fixiert wird 15 Min. lang i. schwäch. Flemmingschem Gemisch, gefärbt m. Heidenhains Eisen-Hämatoxylin, dabei Beizung ½ Std. u. Färbg. ebenfalls ½ Std. Zum Durchsichtigmachen d. Sporenmembranen bringt m. d. Mat. nach d. Fixierg. f. 12—24 Std. in 1-proz. Wasserstoffsuperoxyd. — Parasit. Zustände v. Ustilagineen lassen sich nur an Mikrotomschnitten v. 5—7,5 μ Dicke gut studieren. F. Rawitscher, Ztschr. f. Bot., Bd. XIV. 1922, S. 276.

— Die Verarbeitg. d. auf Objträg. ausgesäten Sporenkeimlinge z. Dauerpräp. begegnet d. Schwierigkeit, daß während d. versch. Prozeduren, denen d. Obj. unterworfen werden müssen, ein großer Teil ders. verloren geht. Eine Methode, d. allerdings nicht f. alle hier i. Betracht kommenden Obj. sich eignet, ist v. H. Kniep bei d. Untersuchg. v. Urocystis Anemones erprobt worden. Die Objektträger, auf denen d. Keimlinge sich befinden, kommen, nachdem d. Fixierflüssigk. eingewirkt hat u. abgesaugt ist, i. Wasser, d. nach d. Auswaschen möglichst gut m. Fließpapier z. entfernen ist. Nur

W.

Register V.

Verzeichnis der wichtigsten Bezugsquellen.

Die Preisangaben im Text beziehen sich auf die am 1. Mai 1922, die des Reg. IV auf die am 1. Dez. 1922 gültigen Preise; sie werden bei der heutigen unsicheren Wirtschaftslage eine weitere Steigerung erfahren. Die Preise können somit nur einen Annäherungswert darstellen. Die Tagespreise müssen von den Firmen erfragt werden.

1. Apparate für Bakteriologie, Glaswaren.

Bartsch, Quilitz & Co., A.-G., Berlin NW 40, Heidestr. 55/57.

Dr. H. Geißler Nachf., Bonn a. Rh., Meckenheimerstr. 51.

C. Gerhardt, Fabrik u. Lager chem. Apparate, Bonn a. Rh., Bornheimerstr. 90.

J. Greiner, Fabrik für Glaswaren u. wiss. Apparate, München.

Franz Hugershoff, Leipzig, Karolinenstr. 13.

F. u. M. Lautenschläger, G. m. b. H., Berlin N 39, Chausseestr. 92.

Ernst Leitz, Berlin NW 6, Luisenstr. 45 (Zweiggeschäft von *E. Leitz*, Wetzlar).

Schott & Genossen, Jena.

Vereinigte Lausitzer Glaswerke, Berlin SO 36, Lausitzerstr. 10.

2. Chemikalien, Farbstoffe, Einschlußmedien.

Ad. Abich, vorm. Dr. G. Münder, Mikroskop.-chem. Institut, Göttingen.

Aktiengesellschaft für Anilin-Fabrikation, Berlin SO 36, Lohmühlenstr. 67.

Badische Anilin- u. Sodafabrik, Ludwigshafen a. Rh.

A. Beseler & Co., Lackfabrik, Berlin SW 61, Teltowerstr. 5.

Leopold Cassella & Co., G. m. b. H., Frankfurt a. M.

Chemische Fabrik auf Aktien (vorm. E. Schering), Berlin N 39, Müllerstr. 170/71.

Chemische Fabrik Bram, Leipzig-Ölzschau.

Farbenfabriken vorm. Fr. Bayer & Co., Leverkusen b. Köln.

Farbwerke vorm. Meister Lucius & Brüning, Höchst a. Main.

Dr. G. Grübler & Co., Zentralstelle f. mikroskop.-chem.-techn. Bedarfsartikel, Leipzig, Liebigstr. 1b.

C. A. F. Kahlbaum, Adlershof b. Berlin.

E. Merck, Chemische Fabrik, Darmstadt.

Ed. Pfannenschmidt, Lackfabrik, Danzig-Schellmühl.

E. Schering s. *Chem. Fabrik auf Aktien.*

Schimmel & Co., Miltitz b. Leipzig.

Société centrale de produits chimiques, Paris, rue des écoles 42/44 (Frankreich).

Société Française pour les applications de l'Oxylithe, Asnières (Seine), Quai Aulagnier (Frankreich).

Vereinigte Chemische Werke, Charlottenburg.

3. Mikroskope, Mikroskopische Nebenapparate, Apparate für Mikrophotographie und Projektion.

Bausch & Lomb, Optical Co., Rochester, N. Y., U. S. A. Verkaufsstelle f. Deutschland: Frankfurt a. M., Schillerstr. 30.

E. F. Büchi, Optische Werkstätte, Bern, Spitalgasse 34 (Schweiz).

E. Hartnack, Optische und mechanische Werkstätte, Potsdam, Alte Königstr. 20.

N. V. Instrumentfabriek en Handel vorheen: P. J. Kipp & Zonen, Delft, Vorstraat 67—75 (Holland).

F. Koristka, Milano, Piazza d'Armi Vecchia 59 (Italien).

Ernst Leitz, Optische Werke, Wetzlar.

Ernst Leitz, Berlin NW 6, Luisenstr. 45, Zweiggeschäft.

A. Nachet, Successeur, Paris, Rue Saint-Séverin 17 (Frankreich).

Powell & Lealand, Emsdale, Greeham Road, Muswell Hill, N. (England).

C. Reichert, Optische Werke, Wien VIII/2, Bennogasse 24/26 (Österreich).

Reinlicht-Werke, A.-G., Fabrik für Spezialbeleuchtungskörper, München, Osterwaldstr. 8 a.

Dr. A. Schröter, Fabrik und Handlung wissenschaftl. Lehrmittel, Leipzig-Connewitz, Auerbachstr. 5/7.

W. & H. Seibert, G. m. b. H., Optische Werke, Wetzlar.

Stiassnie Frères, Maison Vérick, Constructeurs d'Instruments de Micrographie, Paris, 204 Boulevard Raspail (Frankreich).
W. Walb Nachf., Heidelberg, Bergheimerstraße 9.
W. Watson & Sons Ltd., Manufacturing Opticians, London W. C. I, 313 High Holborn (England).
R. Winkel, G. m. b. H., Optische Werkstätten, Göttingen.
Carl Zeiss, Optische Werke, Jena.
E. Zimmermann, Leipzig, Wasserturmstr. 33.

4. Mikrotome, Bedarfsartikel für Mikrotomtechnik, Präparierutensilien Hilfsapparate.

Bartsch, Quilitz & Co., A.-G., Berlin NW 40, Heidestr. 55/57.
Bausch & Lomb, Optical Co., Rochester, N. Y., U. S. A.
E. F. Büchi, Optische Werkstätte, Bern, Spitalgasse 34 (Schweiz).
Gustav Eger, Graz, Zinzendorfgasse (Österreich).
Z. A. Fraenkel, Frankfurt a. M., Zeil 23.
Dr. H. Geissler Nachf., Bonn a. Rh., Meckenheimerstr. 51.
C. Gerhardt, Fabrik und Lager chemischer Apparate, Bonn a. Rh., Bornheimerstr. 90.
Dr. G. Grübler & Co., Leipzig, Liebigstr. 1 b.
R. Jung, Fabrik wissenschaftl. Instrumente und Apparate, Heidelberg, Hebelstr. 46.
D. B. Kagenaar Sr., Physiologisch Laboratorium, Utrecht, Begijnekade 18 en 19 (Holland). (Vertreter der Fa. *E. Leitz*, Wetzlar.)
G. A. Kleinknecht, Erlangen.
Ernst Leitz, Optische Werke, Wetzlar.
Ernst Leitz, Berlin NW 6, Luisenstr. 45 (Zweiggeschäft).
C. Reichert, Optische Werke, Wien VIII/2, Bennogasse 24/26 (Österreich).
Dr. Hermann Rohrbeck Nachf., G. m. b. H., Berlin N 4, Pflugstr. 5.
Sartorius-Werke, A.-G., Göttingen.
Dr. A. Schröter, Leipzig-Connewitz, Auerbachstr. 5/7.
Spindler & Hoyer, G. m. b. H., Mechan.-optische Werkstätten, Göttingen.
Vereinigte Lausitzer Glaswerke, A.-G., Berlin SO 36, Lausitzerstr. 10.
H. Vogel, Gießen, Westanlage 32.
W. Walb Nachf., Heidelberg, Bergheimerstr. 9.
Wilh. Weiss, Freiburg i. Br., Salzstr. 47.
Carl Zeiss, Optische Werke, Jena.
C. Zimmer, Berlin C 8, Taubenstr. 32.
E. Zimmermann, Leipzig, Wasserturmstr. 3.

Register VI.

Allgemeines Verzeichnis.

Für besondere Angaben über Instrumente, Apparate, Utensilien, Reagentien, Farbstoffe, Pflanzenstoffe, Präparationsmethoden u. ä. ist das Register IV zu vergleichen.

I.

N.

O.

Q.

R.

W.

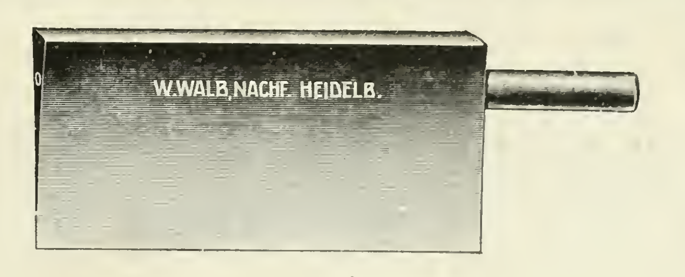
X.

Y.

Z.

Berichtigung:

Auf S. 105, 109, 154, 163, 164, 166 ist statt Scheinknolle S p r o ß knolle zu setzen.



Mikrotommesser „Nothung“

in nur garantiert bester Qualität

Sämtliche Instrumente und Apparate zur Mikroskopie

Billige Bezugsquelle

für Objektträger und Deckgläser in allen Größen

Zoologische und botanische Bestecke

Rasiermesser, Scheren und Pinzetten

Man verlange meine Kataloge

Wilh. Walb Nachf. Inhaber: Hch. Frohnhäuser

Fabrik chirurgischer Instrumente

Heidelberg

Schriften von Eduard Strasburger

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Histologische Beiträge. Heft 1—7 Gz. 64.50

Heft 1: **Über Kern- und Zellteilung im Pflanzenreiche** nebst einem Anhang über Befruchtung. Mit 3 lithogr. Tafeln. 1888 Gz. 7.—

Heft 2: **Über das Wachstum vegetabilischer Zellhäute.** Mit 4 lithogr. Tafeln. 1889 Gz. 7.—

Heft 3: **Über den Bau und die Verrichtungen der Leitungsbahnen in den Pflanzen.** Mit 5 lithogr. Tafeln u. 17 Abbildungen i. Text. 1891 Gz. 24 —

Heft 4: **Das Verhalten des Pollens und die Befruchtungsvorgänge bei den Gymnospermen — Schwärmsporen, Gameten, pflanzliche Spermatozoiden und das Wesen der Befruchtung.** Mit 3 lithogr. Tafeln. 1892 Gz. 7.—

Heft 5: **Über das Saftsteigen. — Über die Wirkungssphäre der Kerne und die Zellgröße.** 1893 Gz. 2.50

Heft 6: **Über Reduktionsteilung, Spindelbildung, Centrosomen und Cilienbildner im Pflanzenreich.** 1900 Gz. 10.50

Heft 7: **Zeitpunkt der Bestimmung des Geschlechts, Apogamie, Parthenogenesis und Reduktionsteilung.** 1909 Gz. 6.50

Studien über Protoplasma. Mit 2 Tafeln. 1876 Gz. 2.40

Uber die Bedeutung phylogenetischer Methoden für die Erforschung lebender Wesen. 1874 Gz. 1.20

Über den Bau und das Wachstum der Zellhäute. Mit 8 Tafeln. 1882 Gz. 10.—

Das Protoplasma und die Reizbarkeit. Rede zum Antritt des Rektorates der Rhein. Friedrich-Wilhelms-Universität am 1. Oktober 1891 Gz. 1.—

Wirkung des Lichtes und der Wärme auf Schwärmsporen. Abdruck a. d. Jen. Zeitschr. f. Naturw. N. F. Bd. V. 1878 Gz. 1.60

Die Angiospermen und Gymnospermen. Mit 22 Tafeln. 1879 Gz. 25.—

Neue Untersuchungen über den Befruchtungsvorgang bei den Phanerogamen als Grundlage für eine Theorie der Zeugung. Mit 2 lithogr. Tafeln. 1884 Gz. 5.—

Anlage des Embryosackes und Prothalliumbildung bei der Eibe nebst anschließenden Erörterungen. Abdruck a. d. Festschrift zum 70. Geburtstage von Ernst Haeckel, herausgegeben von seinen Schülern und Freunden. Mit 2 Tafeln. gr. 4° 1904 Gz. 4.—

Streifzüge an der Riviera. Illustriert von Luise Reusch. Dritte, gänzlich umgearb. Auflage. Mit 85 farb. Abbild. i. Text. 1913 Gz. 10.—, geb. 13.—

Das kleine botanische Praktikum für Anfänger. Anleitung zum Selbststudium der mikroskopischen Botanik und Einführung in die mikroskopische Technik. Neunte, verbesserte Auflage, bearbeitet von Dr. Max Koernicke, Prof. d. Botanik a. d. landwirtschaftl. Hochschule Bonn-Poppelsdorf u. d. Univers. Bonn. Mit 138 Holzschnitten und 3 farb. Abbild. i. Text. X, 272 S. gr. 8° 1921 *Zehnte Auflage im Druck*

Lehrbuch der Botanik für Hochschulen.
Begründet 1894 von **Ed. Strasburger, F. Noll, H. Schenck, A. F. Wilh. Schimper.** Fünfzehnte, umgearb. Aufl., bearbeitet von Prof. Dr. Hans Fitting, Bonn; Prof. Dr. Ludwig Jost, Heidelberg; Prof. Dr. Heinrich Schenck, Darmstadt; Prof. Dr. George Karsten, Halle a. S. Mit 849 zum Teil farbigen Abbild. im Text. VIII, 701 S. 8° 1921 *Sechzehnte Auflage im Druck*

Die botanische Mikrotechnik. Ein Handbuch der mikroskopischen Arbeitsverfahren. Von Dr. **Hans Schneider.** Zweite Auflage des gleichnamigen Werkes von Prof. Dr. A. Zimmermann. Mit 220 Abbild. im Text. XII, 458 S. gr. 8° 1922 Gz. 7.50, geb. 10.—

Inhalt: 1. Das Mikroskop und sein Gebrauch. Allgemeine Mikrotechnik. Die Freihandtechnik. Das Töten und Aufbewahren pflanzlicher Objekte. Die Mikrotomarbeit. Das Färben der Präparate. Das Einschließen der Präparate. Allgemeine Methoden der Verwertung von Präparaten. — 2. Die wichtigsten qualitativ mikrochemischen Verfahren zum Nachweis von Pflanzenstoffen. — 3. Die Zellwand: Allgemeines. Die einzelnen Zellwandstoffe. — 4. Der Protoplast und seine Einschlüsse. Allgemeines. Der Zellkern und seine Einschlüsse. Zentriolen. Das Plasma. Die Chromatophoren und ihre Einschlüsse. Andere eiweißartige Plasmaeinschlüsse. Oelige und gerbstoffhaltige Plasmaeinschlüsse. Einige andere Plasmaeinschlüsse bei niederen Pflanzen. — 5. Besondere Methoden zur Untersuchung von Vertretern der verschiedenen Pflanzengruppen; die wichtigsten Kulturverfahren.

Das in Fachkreisen hochgeschätzte Werk von Zimmermann war lange Zeit vergriffen. An Stelle des Verfassers hat Dr. H. Schneider eine Neubearbeitung übernommen, aus der infolge des großen Zwischenraums zwischen der ersten und dieser neuen Auflage ein fast völlig neues Buch geworden ist. Das Buch ist kein bloßes Praktikum, in welchem der Stoff die Anordnung bestimmt, sondern es ist aufgebaut auf dem leitenden Prinzip der Technik. Ein auf solcher Grundlage bearbeitetes Werk fehlte bisher für die Botaniker.

Einführung in die botanische Mikrotechnik. Von **Hubert Sieben,** Techniker am Botan. Institut der Univers. Bonn. Zweite, verm. und verbesserte Auflage. Mit 22 Abbild. im Text. IX, 114 S. kl. 8° 1920 Gz. 1.75, geb. 3.75

Zeitschrift für Botanik, Bd. V (1913): Sieben gehört zu den Mikrotechnikern, welche über die reichste Erfahrung in der Herstellung botanischer Präparate verfügen. Seine „Einführung" zeigt, daß er außerdem auch die Gabe besitzt, den Anfänger in klarer und knapper Darstellungsweise theoretisch und praktisch anzuleiten. Jeder Student wird sich nach diesen Anleitungen die wesentlichen Handgriffe der Mikrotechnik, d. h. des Fixierens, Einbettens, Schneidens und Färbens leicht zu eigen machen können. . . . Das Werkchen, welches die Traditionen des Strasburgerschen Instituts lebendig erhalten wird, kann für die Einarbeitung in die zytologische Mikrotechnik aufs beste empfohlen werden. Hannig

Mikroskopisches Drogenpraktikum. In Anlehnung an die 5. Ausgabe des deutschen Arzneibuches. Von **Wilhelm Benecke,** a. o. Prof. a. d. Univers. Berlin. Mit 102 vom Verf. gezeichneten Abbild. VI, 95 S. gr. 8° 1912 Gz. 3.—, geb. 5.—

Aus pharmazeutischer Unterrichtstätigkeit entstanden, verfolgt das vorliegende neue Praktikum ein durchaus praktisches Ziel: es gibt eine kurze und übersichtliche Darstellung der mikroskopischen Charaktere der wichtigsten Drogen in Wort und Bild, welche den Studenten orientieren soll über die mikroskopischen Merkmale der Drogen, zu deren genauerer Durcharbeitung die Zeit im Kolleg nicht reichte. Darüber hinaus wird es aber auch von Apothekern gewiß gern als ein Atlas zum deutschen Arzneibuch benutzt werden.

Leitfaden der Mikrophotographie in der Mykologie. Von Dr. **Franz Fuhrmann,** Privatdozent für techn. Mykologie an der techn. Hochschule und Bakteriologie an der Universität Graz. Mit 33 Abbild. im Text und 3 Tafeln. V, 88 S. gr. 8° 1909 Gz. 3.—

Inhalt: Einleitung. — 1. Die mikrophotographische Einrichtung. 2. Die Aufstellung der mikrophotographischen Einrichtung. 3. Die Zentrierung der mikrophotographischen Einrichtung. 4. Lichtquellen. 5. Die Lichtfilter und photographischenPlatten. 6. Das Aufnahmeverfahren. 7. Der Negativprozeß. 8. Der Positivprozeß. 9. Vervielfältigungsverfahren für den Tafel- und Buchdruck. 10. Die miskroskopischen Präparate. — Sachregister.

Praktikum für morphologische und systematische Botanik. Hilfsbuch bei praktischen Uebungen und Anleitung zu selbständigen Studien in der Morphologie und Systematik der Pflanzenwelt. Von Prof. Dr. **Karl Schumann,** weil. Kustos am botan. Museum und Privatdoz. a. d. Univers. zu Berlin. Mit 154 Abbildungen im Text. VIII, 610 S. gr. 8° 1904 Gz. 13.—

Englers botanische Jahrbücher, 1904, Bd. 34, Heft 3: Ein außerordentlich reicher Lehrstoff ist in diesem über 600 Seiten starken Bande zusammengebracht. . . . Das Werk behandelt in einzelnen ausführlichen Kapiteln je eine Pflanzenart in morphologischer und systematischer Hinsicht in allen ihren Teilen von der Wurzel bis zum Fruchtknoten; daneben sind dann vielfach Bemerkungen über verwandte Arten und Gruppen eingestreut. Die Anordnung des Stoffes ist eine chronologische, nicht eine systematische; es werden der Reihe nach Frühlings-, Sommer- und Herbstpflanzen behandelt, und zwar ist die Arbeit auf zwei Jahreskurse verteilt gedacht.

Mikrochemie der Pflanze. Von Dr. **Hans Molisch,** o. ö. Professor und Direktor des pflanzenphysiologischen Instituts an der Univers. Wien. Dritte, neubearbeitete Auflage. Mit 135 Abbildungen im Text. XII, 438 S. gr. 8° 1923 Gz. 8.—, geb. 11.—

Die Naturwissenschaften 1922, Nr. 9: „. . . . Doch nicht nur durch seine eigenen Entdeckungen spricht Molisch als Forscher unmittelbar zum Leser; er hat auch die meisten Ergebnisse anderer, wie er im Vorworte mitteilt, selbst nachgeprüft. Daher durchzieht das ganze Werk der lebendige Geist eigenster Erfahrung: so schenkt Molisch dem dankbar Lernenden außer überreicher Anregung auch ein Dokument echter Naturforscherarbeit." Freudenberg

Vorlesungen über Pflanzenphysiologie. Von Dr. **Ludwig Jost,** o. ö. Prof. an der Univers. Straßburg. Dritte Auflage. Mit 194 Abbild. im Text. XVI, 760 S. gr. 8° 1913 *Vierte Auflage in Vorbereitung*

Pflanzenphysiologie als Theorie der Gärtnerei. Von Dr. **Hans Molisch,** o. ö. Prof. und Direktor des pflanzenphysiolog. Instituts an der Univers. Wien. **Für Botaniker, Gärtner, Landwirte, Forstleute und Pflanzenfreunde.** Fünfte, neubearbeitete Auflage. Mit 151 Abbild. im Text. X, 337 S. gr. 8° 1922 Gz. 6.—, geb. 8.—

Inhalt: I. Ernährung. 1. Die Wasserkultur. 2./3. Die unentbehrlichen und die entbehrlichen Aschenbestandteile. 4. Stickstoff. 5. Der Boden. 6. Die Düngung. 7. Die Kohlensäureassimilation. 8. Das Wasser und seine Bewegung. 9. Die Transpiration und der Transpirationsstrom in Beziehung zu gärtnerischen Arbeiten. 10. Die Wanderung der Assimilate. 11. Die Ernährung der Pilze. 12. Ernährungsweisen besonderer Art. — II. Atmung. — III. Wachstum. 1. Allgemeines. 2. Wachstum und Außenbedingungen. 3. Wachstumsbewegungen. 4. Organbildung. 5. Ruheperiode, Treiberei und Laubfall. — IV. Vom Erfrieren und Gefrieren der Pflanzen. — V. Die ungeschlechtliche und die geschlechtliche Fortpflanzung. — VI. Die Keimung der Samen. — VII. Variabilität, Vererbung und Pflanzenzüchtung. — Sachregister.

Das Erscheinen von fünf Auflagen innerhalb 7 Jahren (die 1. Aufl. erschien 1916) ist wohl die beste Empfehlung für dieses Buch; es nimmt bereits einen ehrenvollen Platz in der gärtnerischen und in der botanisch-fachwissenschaftlichen Literatur ein.

Pflanzenforschung. Von Prof. Dr. **R. Kolkwitz,** Dahlem-Steglitz.
I. Heft: **Phanerogamen** (Blütenpflanzen). Mit 1 farbigen Tafel und 37 Abbild im Text. VI, 64 S. gr. 8° 1922 Gz. 1.50

Inhalt: 1. Notwendige Elemente und Nährsalze. 2. Das Chlorophyll und seine Funktion. 3. Diffusion, Osmose und Turgor. 4. Zucker, Stärke, Zellulose, fettes Oel. 5. Eiweiß. 6. Wasser und Luft. 7. Atmung. 8. Wachstum, Bewegung und Reiz. 9. Fortpflanzung und Vererbung. — Literatur. Register.

Pflanzenphysiologie. Von Prof. Dr. **R. Kolkwitz,** Dahlem-Steglitz. Versuche und Beobachtungen an höheren und niederen Pflanzen einschließlich Bakteriologie und Hydrobiologie mit Planktonkunde. Zweite, verbesserte und vermehrte Auflage. Mit 153 Abbildungen im Text und 12 zum Teil farbigen Tafeln. VI, 304 S. gr. 8° 1922 Gz. 5.50, geb. 8.50

Dieses Buch ist aus Versuchen und Uebungen entstanden, die bezweckten, Studierende in die physiologische Botanik einzuführen. Die durch den Krieg und die Nachkriegszeit geschaffene Lage ließ es dem Verfasser bei der vorliegenden neuen Auflage erwünscht erscheinen, die Versuche so einfach wie möglich zu gestalten, ohne ihre Genauigkeit zu beeinträchtigen. Der Stoff ist in der Weise behandelt, daß das Buch als Kombination einer theoretischen und praktischen Physiologie gelten kann. Es ist in erster Linie für diejenigen bestimmt, welche in dem Buch nicht nur lesen, sondern danach auch arbeiten wollen.

Morphologie und Biologie der Algen. Von Dr. **Friedrich Oltmanns,** Prof. d. Bot. an der Univers. Freiburg i. Br. Zweite, umgearbeitete Auflage.
I. Band: **Chrysophyceae — Chlorophyceae.** Mit 287 Abbildungen im Text. VI, 459 S. gr. 8° 1922 Gz. 7.50. geb. 10.—

Inhalt: 1. Chrysophyceae. — 2. Heterocontae. — 3. Cryptomonadales. — 4. Euglenaceae. — 5. Dinoflagellata. — 6. Conjugatae. — 7. Bacillariaceae. — 8. Chlorophyceae (Volvocales, Protococcales, Ulotrichales, Siphonocladiales, Siphonales). Charales.

II. Band: **Phaeophyceae — Rhodophyceae.** Mit 325 Abbildungen im Text. IV, 439 S. gr. 8° 1922 Gz. 8.—, geb. 10.—

Inhalt: 9. Phaeophyceae (Ectocarpales, Sphacelariales, Cutleriales, Laminariales, Tilopteridales, Dictyotales, Fucales. Verwandtschaften der Phaeophyceae, Bangiales . . .). — 10. Rhodophyceae. a) Aufbau der vegetativen Organe. b) Fortpflanzung.

III. Band: im Druck.

Aufgaben und Ziele einer vergleichenden Physiologie auf geographischer Grundlage.

Von Dr. **Hans Fitting**, o. ö. Professor der Botanik. 42 S. gr. 8⁰ 1922 Gz. —.90

In der Pflanzenphysiologie macht sich in den letzten Jahren in zunehmendem Maße eine Betrachtungsweise geltend, die für sie von hoher Bedeutung zu werden beginnt und aus der sich ein neuer Zweig als „geographische Physiologie" zu entwickeln scheint. Bisher ist noch niemals der Versuch gemacht worden, die Aufgaben dieser Wissenschaft klar in ihren Umrissen zu zeichnen. Der auf diesem Gebiete mit langjährigen Erfahrungen vertraute Verfasser zeigt in diesem Vortrag die neue Richtung in ihren Zielen und in ihren bisherigen Ergebnissen.

Die Pflanze als lebender Organismus.

Von Dr. **Hans Fitting**, o. ö. Prof. der Botanik an der Universität Bonn. 44 S. gr. 8⁰ 1917 Gz. —.90

Die Schrift behandelt die jetzigen und die früheren Vorstellungen der führenden Naturphilosophen und Biologen (z. T. von Aristoteles, Kant, Goethe, Lamarck, Lotze, Spencer usw., vor allem aber der Botaniker) über das Wesen der Pflanze im Vergleiche mit den Anschauungen der Tierphysiologen für das Tier. Im Mittelpunkte der durch Anmerkungen weiter erläuterten Ausführungen stehen also die Fragen nach den wesentlichen physiologischen Besonderheiten des Pflanzenorganismus und nach den physiologischen Beziehungen seiner Teile, der Zellen und der Organe, zum Ganzen und des Körpers zu den Teilen. Dabei wird die bekannte und weit verbreitete Lehre vom Zellenstaate und der Vergleich des Staates mit dem Organismus kritisch beleuchtet.

Populäre biologische Vorträge.

Von **Hans Molisch**, o. ö. Prof. und Direktor des pflanzenphysiolog. Instituts an der Universität Wien. Zweite, durchgesehene und erweiterte Auflage. Mit 71 Abbildungen im Text. VII, 306 S. gr. 8⁰ 1922 Gz. 3.—, geb. 5.—

Inhalt: 1. Goethe als Naturforscher. 2. Eine Wanderung durch den javanischen Urwald. 3. Reiseerinnerungen aus China und Japan. 4. Das Leuchten der Pflanzen. (Mit 8 Abbild.) 5. Warmbad und Pflanzentreiberei. (Mit 4 Abbild.) 6. Ultramikroskop und Botanik. (Mit 1 Abbild.) 7. Das Erfrieren der Pflanzen. (Mit 7 Abbild.) 8. Ueber den Ursprung des Lebens. 9. Das Radium und die Pflanze. 10. Der Naturmensch als Entdecker auf botanischem Gebiete. 11. Der Scheintod der Pflanze. 12. Die Verwertung des Abnormen und Pathologischen in der Pflanzenkultur. 13. Biologie des atmosphärischen Staubes (Aëroplankton). 14. Die Wärmeentwicklung der Pflanze. 15. Ueber die Herstellung von Photographien in einem Laubblatte. 16. Ueber die Kunst, das Leben der Pflanzen zu verlängern. 17. Botanische Paradoxa. 18. Goethe, Darwin und die Spiraltendenz im Pflanzenreiche. 19. Das lebende Reagens. — Autorenverzeichnis.

Die Zeichenkunst im Dienst der beschreibenden Naturwissenschaften.

Von **Ferdinand Bruns**, Zeichenlehrer am Realgymnasium in Barmbeck-Hamburg. Mit 6 Abbild. im Text und 44 Tafeln. VIII, 100 S. 4⁰ (30×23 cm) 1922 Gz. 7.—, geb. 10.—

Inhalt: Einleitung. — Das Zeichnen der „Primitiven". — Zeichnen nach ebenen Gebilden: 1. Blattformen. 2. Schmetterlingsflügel. 3. Die Verwendung der Hinweisstriche. 4. Das Kopieren. 5. Das Zeichnen nach ebenen Schnitten. — Zeichenapparate. — Reproduktionstechnik: Die photomechanischen Reproduktionsmethoden (Lichtdruck, Autotypie, Strichätzung). — Zeichnen nach räumlichen Gebilden: 1. Das Projektionszeichnen (Blattspurstränge, Blütengrundrisse). 2. Blattüberschneidungen (Gedrehte und gewundene Achsengebilde). 3. Die Perspektive (Blütenstände). — Die Silhouette. — Schwarz-Weiß-Malerei. — Licht und Schatten. — Spiegelung und Reflex. — Das Zeichnen nach mikroskopischen Präparaten. — Das Wandtafelzeichnen. — Aus der Geschichte des naturwissenschaftlichen Zeichnens. — Namen- und Sachverzeichnis.

In diesem Buche ist von der Zeichenkunst nur insoweit die Rede, als sie in erster Linie dem Naturwissenschaftler Dienste leisten kann. Es vermittelt ein Lehrverfahren, das sich zum Ziel setzt, den Zeichner zu befähigen, solche Gegenstände mit den Ausdrucksmitteln der Zeichnung und der Malerei nachzubilden, deren Betrachtung Aufgabe der beschreibenden Naturwissenschaften ist, oder Ideen auszudrücken, die dem Arbeitsbereich dieser Wissenschaften angehören.

Das vorliegende Werk ist durchaus wissenschaftlich orientiert und in der Problemstellung und Durchführung vollkommen original und füllt eine Lücke, die nicht nur in der deutschen Literatur, sondern auch im ausländischen Schrifttum allgemein vorhanden ist. Es dürfte allen wissenschaftlich Arbeitenden, die Abbildungen herzustellen haben, große Dienste leisten und für naturwissenschaftliche Autoren ein schätzbares Unterrichtswerk bilden.


FÖSTE, LÜDDECKE, BÖHNISCH & CO
GROSSBUCHBINDEREI, LEIPZIG.